

Ensaio De Tratamentos Térmicos Em Vinhos Tintos

Efeitos na composição Físico-Química e análise sensorial

Manuel Maria Rosado Louret Ezequiel

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em
Viticultura e Enologia

Orientador: Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva

Co-orientador: Engenheiro Rui Duarte Roboredo e Castro Madeira

Júri:

Presidente: Doutor Rogério Albino Neves de Castro, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Licenciada Olga Maria Carrasqueira Laureano Melícias Duarte, Investigadora Coordenadora do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, na qualidade de especialista;

Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva, Professor Associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Licenciado Rui Duarte Roboredo e Castro Madeira, na qualidade de especialista.

Lisboa, 2010

I. AGRADECIMENTOS

Ao Exmo. Sr. Professor Jorge Ricardo da Silva, por todos os conselhos, apoio e dedicação durante todo o curso e orientação neste trabalho.

À Adega Cooperativa de Freixo de Espada a Cinta, por me ter permitido a realização do ensaio, se ter disponibilizado totalmente e ter fornecido todo o material necessário à realização deste estudo.

Ao Artur Antunes, por me ter guiado e orientado na dissertação e no estágio realizado na Cooperativa de Freixo.

Ao Sr. Eng. Rui Madeira por toda a disponibilidade demonstrada, ajuda, ensinamentos e possibilidade de realização deste estudo.

À Exma. Sra. Professora Olga Laureano, pelas aulas, ensinamentos e conselhos durante todo o curso e aprendizagem no I.S.A.

À Dona Graziela por toda a ajuda, assistência e paciência no laboratório.

Aos Exmos. Srs. Professores Manuel Malfeito e Virgílio Loureiro nos ensinamentos sobre microbiologia enológica e ajuda durante todo o curso e na realização deste trabalho.

Aos Exmos. Srs. Professores Rogério de Castro, Carlos Lopes e Eng. Amândio Cruz pelos ensinamentos em Viticultura e ajuda durante todo o curso.

Ao Instituto Superior de Agronomia por todos os momentos proporcionados durante o curso e por ter sido uma escola de vida que estará presente para sempre.

A todos os amigos que ganhei durante os cinco anos de curso, amigos para a vida.

À Equipa de Râguebi Universitária de Agronomia e a todos que dela fizeram, fazem e farão parte.

À Associação Portuguesa de Jovens Enófilos (APJE) e a todos os seus elementos, associação onde tanto aprendi e convivi com grandes amigos, Xito, Piruças, Maioral, e Javali.

Aos meus pais por toda a dedicação, ajuda e apoio e principalmente, pela possibilidade de ter um curso superior.

Ao meu Avô por todo o apoio, e principalmente por tudo o que me ensinou.

Ao meu irmão Vasco pela ajuda e conselhos durante todo o percurso e vida.

Ao Calhau, Direitinho, Mascarenhas, Maria Pedro, Catarina, Pipa, Sofia, Pipa.

A todos os que me ajudaram directa ou indirectamente na elaboração deste trabalho.

II. RESUMO

A enologia actual utiliza cada vez mais a tecnologia na tentativa de melhorar e não deteriorar a qualidade da matéria-prima obtida na vinha.

O uso da Pasteurização como método de estabilização microbiológica é um método muito antigo, sendo também usado no sector do vinho.

É porém necessário conhecer os seus efeitos nas características de tal produto, considerado histórico e de eleição na vida das pessoas, sabendo se afecta a sua qualidade e, por conseguinte o seu valor.

Procedeu-se a um ensaio usando a pasteurização como método físico de estabilização de vinhos em detrimento de outros métodos. Foi estudada a influência deste tratamento nas características físico-químicas e sensoriais de um vinho tinto da Região do Douro, tendo sido feitas várias análises ao vinho. Através da comparação entre duas modalidades, um vinho sujeito a tratamento por pasteurização e outro não, foram registados e analisados os resultados dos diferentes parâmetros.

Comparando os resultados obtidos nos dois vinhos, podemos concluir que o tratamento por pasteurização não afecta os vinhos na generalidade das análises. Apenas se regista um muito ligeiro decréscimo em alguns compostos da cor, podendo haver uma ligeira diminuição também na cor dos vinhos, algo que, contudo não foi detectado aquando da análise sensorial. Existe também uma perda da acção do ácido metatartárico pela acção da temperatura, tornando o vinho pasteurizado instável em termos do aparecimento de tartaratos.

Ao nível sensorial existem poucas diferenças entre as duas modalidades, havendo parâmetros de maior qualidade no vinho pasteurizado e outros no vinho não sujeito a tratamento.

Palavras-chave: Tecnologia, Pasteurização, Estabilização Microbiológica, Efeitos Físico-Químicos e Sensoriais.

III. ABSTRACT

Nowadays, the technology in oenology is getting more and more advanced. By using technology, we can try to have a better wine quality and take advantage of the grapes we get into the winery.

The use of Pasteurization as a method to control microbiological problems is very old, being now widely used in winemaking, mainly in table wines. However it can have some disadvantages when it is not well used. We may want to study its influence in wine, getting to know the best way to use it and how it can influence the quality of the most charismatic beverage, the wine.

Then, a trial has been made, using pasteurization as an alternative method for wine stabilization, concerning microbiological stability.

The study about the influence of this thermal treatment in the Physical, Chemical and Sensory analysis of a red wine in Douro Valley, Portugal was done. With this knowledge we could see the differences between a pasteurized wine and not.

Comparing the results obtained in the trial, we can conclude there is no influence in the major analysis made, having however a very little decrease in the amount of the colour compounds in the pasteurized wine, having no such result in the sensory analysis. Also the metatartaric acid which was used to prevent the tartaric precipitation was influenced by the heat, making the pasteurized wine instable.

In the sensory analysis, we can see there is some improvement in the pasteurized wine, while the non pasteurized one stays the same, having however no significant differences between the two wines compared.

One, the most important thing to retain is the knowledge we need to have for using any kind of wine treatment. We shall try to know how it works and so, try to have the best treatment having the less wine modifications as possible. By using it, we can have an alternative to the use of chemical compounds and having more safety and quality in the final product, so the consumer has the best to buy.

Key Words: Technology, Pasteurization, Microbiological Stabilization, Physical Chemical and Sensory Effects.

IV. EXTENDED SUMMARY

The use of technology in the wine industry is today very important in trying to get the best quality at the lowest cost. Although the quality of the grapes is the major factor in winemaking, technology can help the winemaker improving the quality of the wine.

The use of thermal treatments is starting to get widely used all around the food industry and also in the wine industry. It is used to have a better control in the microbiological stabilization. It is normally used in the so called pop wines where some residual sugar is left in the wine, so it can please a wider public of consumers. With Pasteurization we can control the possible problems of refermentation in bottle, and so have a better quality in the wine, concerning the food safety. There are other different treatments we can use in this kind of microbiological stabilization, some chemical as the use of DMDC or the use of larger sulphur dioxide amounts, some physical by using sterile filtration. They can be an alternative having advantages and disadvantages.

The heat treatments can be made by several different techniques using different temperatures and times of application. Concerning thermal treatments we can have: casual pasteurization, flash pasteurization, hot bottling, tunnel pasteurization, thermovinification and *flash détente*, each one being better used depending on the situation and kind of treatment we need.

In this study we made a trial using both flash pasteurization and hot filling with the goal to stabilize a wine containing some residual sugar and so, having no future problems during its exportation.

This kind of thermal treatments can have some influence in wine quality, so we tried to study its influence in the Physical, Chemical and Sensory analysis of a red wine in Douro Valley, Portugal. With this knowledge we could see the differences between a pasteurized wine and one not.

In this study we compared the same wine by making current analysis, trying to know the differences in the two wines tested.

By looking to the results obtained in the trial, we can conclude there are no influences in the major analysis made, having however a very little decrease in some of the colour compounds, which didn't happen in the sensory analysis. Also, the temperature had some influence in the metatartaric acid that was added to prevent the tartaric precipitation, leading to instability in the wine after the thermal treatment.

In the sensory analysis, we can see there is some improvement in the pasteurized wine, while the non pasteurized one stays the same, having however no significant differences between the two wines compared.

One, the most important thing to retain is the knowledge we need to have for using any kind of wine treatment. We shall try to know how it works and so, try to have the best treatment having the less wine modifications as possible. By using it, we can have an alternative to the use of chemical compounds and having more safety and quality in the final product, so the consumer has the best to buy.

Key Words: Technology, Pasteurization, Microbiological Stabilization, Physical Chemical and Sensory Effects.

V. ÍNDICE

I. AGRADECIMENTOS.....	2
II. RESUMO	3
III. ABSTRACT	4
IV. EXTENDED SUMMARY	5
V. ÍNDICE.....	7
VI. LISTA DE QUADROS	11
VII. LISTA DE FIGURAS.....	12
VIII. INTRODUÇÃO	13
IX. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1. Higiene em Vinificação	14
2. A Pasteurização	15
2.1. História	15
2.2. Tratamentos térmicos em vinhos.....	16
2.3. Tipos de Pasteurização	16
2.3.1. Pasteurização	16
2.3.2. Pasteurização flash.....	17
2.3.3. Pasteurização em garrafa (Túnel).....	18
2.3.4. Engarrafamento a quente (Termolização)	18
2.4. Outras aplicações de temperaturas altas em enologia	19
2.4.1. Termovinificação	19
2.4.2. <i>Flash Détente</i>	20
2.5. Conceito de Unidade de Pasteurização (UP).....	20
2.6. Funcionamento e execução da Pasteurização flash.....	23
2.7. Aplicações da Pasteurização / Estabilização de vinhos	24

3.	Acção da temperatura sobre as características do vinho	24
3.1.	Microbiológica.....	25
3.1.1.	Estabilidade Microbiológica	25
3.1.2.	Termoresistência dos microrganismos.....	26
3.2.	Química	27
3.2.1.	Enzimas.....	27
3.2.2.	Proteínas.....	27
3.2.3.	Formação de colóides protectores.....	28
3.2.4.	Microcristais - estabilidade dos tartaratos.....	28
3.2.5.	Cor e compostos fenólicos	29
3.2.6.	Compostos voláteis e outros constituintes dos vinhos	30
3.2.7.	A utilização de dióxido de enxofre e os tratamentos térmicos.....	30
3.2.8.	Outras Modificações / Envelhecimento nos vinhos.....	31
3.3.	Efeitos sensoriais dos tratamentos térmicos	32
4.	Alternativos ao uso da Pasteurização	33
4.1.	Dióxido de enxofre	33
4.2.	Dimetil dicarbonato (DMDC).....	34
4.3.	Filtração esterilizante	34
X.	MATERIAL E MÉTODOS	35
1.	Material utilizado	35
1.1.	Adega.....	35
1.2.	Filtro	35
1.3.	Pasteurizador.....	35
1.4.	Vinhos usados no ensaio	36
2.	Métodos de tratamentos térmicos utilizados.....	36
3.	Análise físico-química dos vinhos.....	38

3.1. Caracterização geral – Análise sumária	38
3.2. Análises Específicas	38
4. Análise sensorial	42
5. Análise microbiológica	42
6. Análise estatística	42
XI. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
1. Parâmetros físico químicos	43
1.1. Análise sumária	44
1.1.1. Acidez volátil	44
1.1.2. pH	44
1.1.3. Dióxido de enxofre (SO ₂)	45
1.1.4. Teor alcoólico	46
1.1.5. Massa volúmica	46
1.1.6. Extracto seco	47
1.1.7. FML	47
1.1.8. Acidez total / Acidez fixa	48
1.1.9. Açúcares redutores	48
1.2. Composição azotada	49
1.2.1. Azoto total	49
1.2.2. Teor em proteína	50
1.3. Composição mineral	50
1.3.1. Cinzas	50
1.3.2. Alcalinidade das cinzas	51
1.3.3. Sulfatos	52
1.3.4. Cloretos	52
1.3.5. Catiões totais	53
1.4. Estabilidade físico-química	53

1.4.1.	Estabilidade tartárica.....	54
1.4.2.	Prova do ar	54
1.4.3.	Turvação	55
1.5.	Composição fenólica e cor	55
1.5.1.	Intensidade, tonalidade e cor devida à copigmentação.	56
1.5.2.	Pigmentos poliméricos, totais e índice polimerização.	57
1.5.3.	Antocianinas totais, coradas e seu grau de ionização.....	57
1.5.4.	Fenóis totais, não flavonóides e flavonóides.	58
1.5.5.	Taninos em função do grau de polimerização (Proantocianidinas)	58
1.5.6.	Poder tanante.....	59
2.	Análise sensorial e tratamento estatístico dos resultados	60
3.	Resultados teste à estabilidade microbiológica	62
4.	Perspectivas Futuras	63
XII.	CONCLUSÃO	64
XIII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
XIV.	ANEXOS	76

VI. LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Valor de Unidades de Pasteurização, relativas a cada temperatura por 1 minuto.

Quadro 2 – Fases da Pasteurização, temperaturas, tempos e unidades de pasteurização respectivas, para determinação do total de UP do tratamento.

Quadro 3 – Métodos usados na determinação da estabilidade físico-química.

Quadro 4 – Métodos utilizados na determinação da análise sumária dos vinhos.

Quadro 5 – Métodos usados na determinação da composição mineral.

Quadro 6 – Métodos usados na determinação da composição azotada.

Quadro 7 – Métodos usados na determinação da composição fenólica e cor.

Quadro 8 – Análise sumária dos vinhos usados no ensaio.

Quadro 9 – Valores obtidos de catiões totais.

Quadro 10 – Valores da intensidade, tonalidade e copigmentação dos dois vinhos.

Quadro 11 – Valores de pigmentos poliméricos totais e Índice de polimerização.

Quadro 12 – Valores de antocianinas totais, coradas e seu grau de ionização.

Quadro 13 – Valores de fenóis totais, não flavonóides, flavonóides e índice de polifenóis.

Quadro 14 – Valor de proantocianidinas registada nos dois ensaios realizados.

Quadro 15 – Valor de poder tanante obtido nas duas modalidades em estudo.

Quadro 16 – Valores de médias e desvio padrão da análise sensorial das duas modalidades em estudo, Testemunha e Pasteurizado.

Quadro 17 – Resultados do tratamento estatístico dos vários atributos analisados na análise sensorial dos dois vinhos em estudo, Testemunha e Pasteurizado.

Quadro 18 – Contagem de microrganismos totais em vinho.

VII. LISTA DE FIGURAS

- Fig.1** – Esquema térmico da Pasteurização.
- Fig.2** – Esquema térmico da Pasteurização flash.
- Fig.3** – Esquema térmico da Pasteurização túnel.
- Fig.4** – Esquema térmico misto de uma Pasteurização flash e engarrafamento a quente.
- Fig.5** – Esquema de um aparelho de Pasteurização flash.
- Fig.6** – Resultados da acidez volátil obtidos.
- Fig.7** – Valores de pH ao longo do período de estabilização.
- Fig.8** – Valores de dióxido de enxofre (livre, combinado e total).
- Fig.9** – Teor alcoólico registado.
- Fig.10** – Valores de massa volúmica obtidos.
- Fig.11** – Valores de extracto seco obtidos.
- Fig.12** – Valores de acidez total e acidez fixa obtidos.
- Fig.13** – Valores de açúcares obtidos.
- Fig.14** – Valores de azoto total.
- Fig.15** – Valores de teor em proteína.
- Fig.16** – Valores de cinzas obtidos.
- Fig.17** – Valores de alcalinidade das cinzas obtidos nos dois vinhos.
- Fig.18** – Valores de sulfatos obtidos.
- Fig.19** – Teor em cloretos registado.
- Fig.20** – Ensaio de estabilidade do bitartarato de potássio.
- Fig.21** – Ensaio de turvação por nefelometria.
- Fig.22** – Valor de proantocianidinas (monoméricas, oligoméricas e poliméricas) obtido.

VIII. INTRODUÇÃO

Actualmente a enologia está cada vez mais avançada, no que respeita ao uso das tecnologias modernas. A pasteurização é uma tecnologia de estabilização bastante antiga mas que actualmente, face a um melhor controlo da sua operacionalidade, continua a ser utilizada nas adegas, com melhoria da sua eficácia de utilização.

Visa essencialmente a eliminação ou inactivação de microrganismos que causem problemas de estabilização e conservação dos vários produtos alimentares, neste caso o vinho.

Actualmente para certos mercados de exportação, verifica-se um aumento da exigência da qualidade dos vinhos, nomeadamente no que toca ao uso de compostos químicos como o dióxido de enxofre, reduzindo cada vez mais as suas doses de aplicação. É também corrente a vinificação de vinhos que apresentem um ligeiro teor de açúcar residual, sendo mais apreciados nesses mercados. A vinificação deste tipo de vinhos exige um grande sentido de responsabilidade do produtor e um muito bom conhecimento das tecnologias necessárias à concepção de determinado vinho, devido ao perigo de possibilidade de ocorrência de refermentações em garrafa, levando à perda de qualidade do vinho a todos os níveis.

Assim, é necessário proceder a uma perfeita estabilização dos vinhos, devido à grande exigência dos compradores e ainda à influência que o tempo de transporte desde a adega até ao mercado importador pode ter nas características do produto.

Tendo a necessidade de usar métodos físicos de estabilização microbiológica fiáveis, devido aos factores já citados, torna-se extremamente importante para o produtor, o conhecimento da melhor técnica a ser utilizada. Assim, poderá ter a maior eficácia em termos de estabilização dos vinhos, reduzindo o efeito do calor sobre a sua qualidade.

Apesar de tudo, a escolha na utilização dos métodos químicos ou físicos deverá ser feita de acordo com o tipo de vinho que se quer obter e tipo de mercado, dependendo destes factores deveremos empregar a melhor técnica consoante os meios e capacidades de que se dispõe.

Usando um método de pasteurização considerado fiável e que não afecta a qualidade dos vinhos, pretendemos avaliar cientificamente a sua precisão. Por isso, neste trabalho a análise da influência deste método nas características físico químicas e sensoriais do vinho foi realizada em pormenor, ficando assim com o conhecimento dos pontos mais críticos do método e de tentativas de melhoria para que todos os produtores que o utilizem consigam cada vez mais ter melhores resultados e, por conseguinte, maior valor acrescentado ao seu produto, o vinho.

IX. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Higiene em Vinificação

Segundo o *Guide Pratique de L'Hygiene en Œnologie*, os microrganismos influenciam bastante as características qualitativas de todos os produtos alimentares, incluindo o vinho. Esta influência tem vantagens e desvantagens, sendo a principal preocupação os acidentes que podem advir de uma deficiente higienização da adega.

Existem dois principais conceitos que convém ter em conta: a limpeza, que é a remoção de determinadas substâncias de uma superfície, e a desinfecção, que é a total eliminação dos microrganismos de uma dada superfície, sendo importante principalmente quando falamos em produtos alimentares e na segurança do consumidor. É ainda diferente do conceito de esterilização.

É necessário proceder a uma boa higienização da adega para que tenhamos todas as superfícies, fisicamente, quimicamente e bacteriologicamente limpas, reduzindo assim ao máximo os problemas que podem ocorrer durante a vinificação.

Apesar de tudo, a higienização em vinho não é tão necessária como noutros produtos alimentares devido a ser considerado como “a mais pura e sã das bebidas”. Porém isto só acontece caso as uvas se encontrem em boas condições antes da vinificação e, como o vinho é sempre acompanhado através da sua análise sensorial, é muito mais difícil a sua contaminação pois seria rapidamente detectada por um bom provador.

Além da necessidade de haver higiene para que se tenha um produto de qualidade e que seja portanto aceite pelo consumidor, é mesmo necessário que isso ocorra, tendo de se respeitar todas as normas que existem na legislação, hoje em dia cada vez mais rigorosa, tentando proteger ao máximo a saúde do consumidor.

Caso a prevenção por via de uma boa higiene no trabalho não funcione, existem ainda técnicas que se podem usar para resolver problemas microbiológicos ou mesmo prevenir que aconteçam, como por exemplo a Pasteurização. Segundo Walls *et* Chuyate (1998), o tratamento térmico e a natureza e composição dos vinhos (acidez elevada e uso de dióxido de enxofre) permitem uma eficaz estabilidade microbiológica.

O uso da Pasteurização é um método que pode ajudar o produtor a ter mais segurança na qualidade do seu produto, ao nível microbiológico e de segurança alimentar.

2. A Pasteurização

A Pasteurização é um método usado desde há muitos anos em vários sectores da indústria alimentar, visando a estabilidade microbiológica dos produtos alimentares através da acção da temperatura nos microrganismos (Parton *et al.* 2007). É também usada em vinho, visando, essencialmente a produção de vinhos que contenham algum açúcar residual, susceptíveis de serem atacados por leveduras ou bactérias lácticas (Vaughn 1955; Rankine *et al.* 1971, 1973). Assim, consegue-se obter o produto pretendido sem haver o risco de devoluções, nem má imagem da empresa ou perda de clientes.

2.1. História

Segundo Pasteur (1924), Nicolas Appert foi o primeiro a indicar a possibilidade de, através da utilização do calor conservar o vinho como os outros produtos alimentares. Constatou que enquanto o vinho testemunha se alterava, o vinho aquecido melhorava as suas características, sendo maior a sua qualidade quando exportado (Pilone 1953).

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (1976), é porém a Louis Pasteur que devemos a demonstração dos efeitos do calor e destruição dos germes microbianos no vinho, tendo assim introduzido a noção de pasteurização.

Segundo Pasteur (1873) o aquecimento de um vinho em garrafa a 60°C permite a destruição dos microrganismos, sem tão pouco alterar as qualidades do vinho nem o seu potencial de envelhecimento. Em 1977 as bases científicas da estabilização microbiológica dos vinhos, foram descritas por Devèze (1977) e Bidan *et al.* (1977), pensando já em esquemas para a realização prática da pasteurização a nível industrial.

A pasteurização era destinada à protecção contra as bactérias acéticas e lácticas, tendo seguidamente sido utilizada como tratamento destinado à destruição das leveduras, permitindo a conservação de vinhos doces ou com algum açúcar residual. O crescimento dos microrganismos tem sido evitado por outros meios, baseados essencialmente em fermentações controladas, processos de clarificação e, principalmente na utilização de dióxido de enxofre como conservante (Ribéreau-Gayon *et al.* 1976).

2.2. Tratamentos térmicos em vinhos

O tratamento de vinhos pela acção da temperatura pode ser realizado de várias maneiras, sendo o objectivo final todo o mesmo, a eliminação de microrganismos prejudiciais e conseguinte estabilização dos vinhos.

Assim, quatro aplicações técnicas estão inteiramente relacionadas com o tratamento do vinho pelo calor:

- A pasteurização;
- A pasteurização flash;
- A pasteurização em garrafa (Túnel);
- O engarrafamento a quente (Termolização).

Apesar de permitir a eficaz estabilidade microbiológica dos vinhos, este tipo de tratamento levanta questões a nível de influência na sua qualidade organoléptica. Por isso, é usado apenas por alguns produtores, sendo que a maioria das pessoas questiona o seu efeito sobre o vinho.

O uso ou não dos tratamentos térmicos é algo que parece paradoxal pois, normalmente a tendência é defender o uso de métodos físicos em detrimento do uso de químicos em produtos alimentares, trazendo uma maior noção de segurança alimentar junto do consumidor final.

Segundo Wurdig (1978); Flanzy *et al.* (1998), dependendo porém da técnica usada, pode haver ou não influência ao nível qualitativo, sendo a técnica de flash pasteurização a mais neutra relativamente à qualidade dos vinhos, qualquer que seja a sua natureza ou cor.

2.3. Tipos de Pasteurização

Existem várias técnicas para se pasteurizar um vinho. Podemos aplicar cada uma delas consoante o objectivo e o produto que se pretende obter. Seguidamente designam-se as principais técnicas usadas.

2.3.1. Pasteurização

A pasteurização compreende a passagem do vinho por um permutador de serpentina, passando água quente em contra corrente a 60 / 65°C durante 1 min (Estabulação) (Fig. 1). O seu arrefecimento até à temperatura ambiente é depois feito à saída do permutador em contra corrente com vinho frio, poupando energia (Ribéreau-Gayon *et al.* 1998).

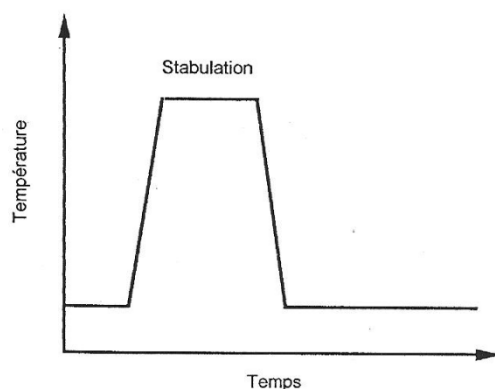


Fig.1 – Esquema térmico da Pasteurização (in Flanzy et al. 1998)

2.3.2. Pasteurização flash

A pasteurização flash consiste em aquecer o vinho rapidamente a alta temperatura (95°C), de o manter durante um curto período a essa temperatura (2 a 6 segundos), sendo depois refrigerado rapidamente até à temperatura ambiente graças a um permutador (Fig. 2). Pensa-se que este método, devido à sua rapidez, afecta menos as características organolépticas do vinho (Ribéreau-Gayon et al. 1998).

Segundo Boulton et al. (1996); Rahman (1999); Aguilar-Rosas et al. (2007) a aplicação de altas temperaturas durante pequenos períodos de tempo, pode também ser designada por HTST: High Temperature Short Time.

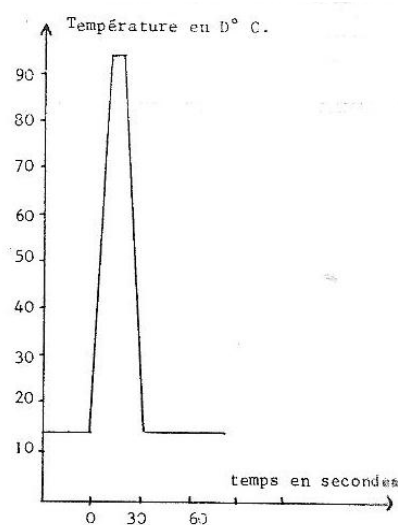


Fig.2 – Esquema térmico da Pasteurização Flash (in Flanzy et al. 1998)

2.3.3. Pasteurização em garrafa (Túnel)

A pasteurização em garrafa (Túnel) é bastante utilizada na indústria de bebidas. As garrafas são introduzidas num túnel e aquecidas por imersão de água quente, havendo por isso uma elevação da temperatura até 55 a 60°C, sendo depois retirada a água, arrefecendo até à temperatura ambiente (Engelman *et al.* 1983; Flanzy *et al.* 1998; Dilay *et al.* 2006) (Fig. 3). Apresenta a vantagem de dar uma grande segurança, não havendo paragens do ciclo como pode acontecer no engarrafamento a quente, nem recontaminações como pode acontecer noutras técnicas. Tem também algumas desvantagens como por exemplo o efeito da dilatação do vinho devido ao aquecimento, havendo tendência a provocar um rebentamento da rolha, sendo a principal desvantagem o seu elevado custo (Wurdig 1978).

Apesar de ser oneroso, é um método interessante para alguns vinhos efervescentes que já permitem o uso desta técnica pois o espaço deixado em vazio entre a rolha e o vinho é muito maior do que no caso de vinhos tranquilos (*in* “*Guide Pratique de L’Hygiene en Oenologie*”).

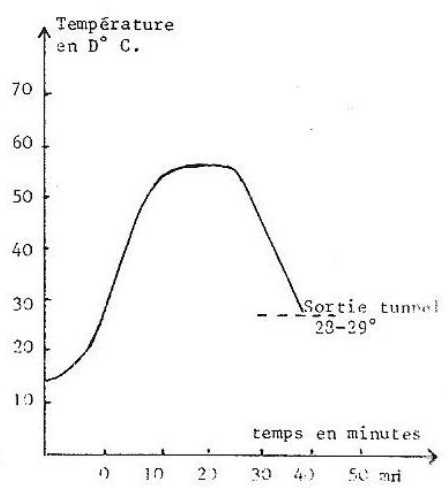


Fig.3 – Esquema térmico da Pasteurização Túnel (*in* Flanzy *et al.* 1998)

2.3.4. Engarrafamento a quente (Termolização)

O engarrafamento a quente (Termolização) é uma técnica de tratamento térmico de vinho que conhece um desenvolvimento industrial acentuado. O princípio consiste em aquecer o vinho a uma temperatura relativamente moderada, até 50 a 55°C, eliminando os microrganismos, sendo o vinho quente directamente transferido para a garrafa, assegurando ao longo do arrefecimento espontâneo, a esterilização do vidro e da rolha (Hood *et al.* Rankine 1977; Flanzy *et al.* 1998) (Fig. 4).

Segundo Wurdig (1978) o engarrafamento a quente não provoca grandes alterações nos vinhos, havendo porém uma maior rapidez de envelhecimento deste tipo de vinhos, sendo que o engarrafamento a frio traz sempre mais-valias em termos sensoriais quando comparado com o engarrafamento a quente.

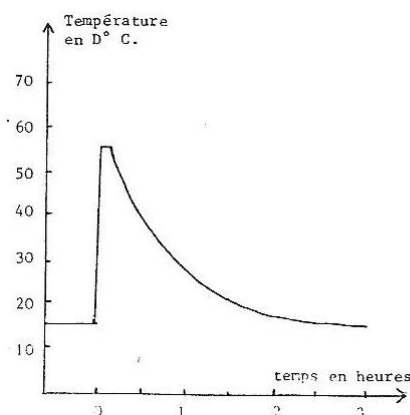


Fig.4 – Esquema térmico misto de uma Pasteurização Flash e Engarrafamento a Quente (*in* Flanzky *et al.* 1998)

2.4. Outras aplicações de temperaturas altas em enologia

2.4.1. Termovinificação

A Termovinificação não é exactamente considerada como uma Pasteurização mas sim como uma técnica com vista à rápida extracção de matéria corante. Apesar disso, funciona também como uma Pasteurização pois, ao aquecer as uvas durante algum tempo, os microrganismos são eliminados (Boulton *et al.* 1996).

É bastante utilizada em uvas que se apresentam bastante contaminadas por microrganismos indesejados, sendo usada em grandes volumes como em adegas cooperativas (Fischer *et al.* 2000).

Existem várias variantes à termovinificação, dependendo das temperaturas usadas, sendo o mais usual aquecer as películas a 60/70°C durante pequenos períodos de tempo, fazendo a sua extracção para o mosto, prensando e seguidamente arrefecendo antes de se proceder à fermentação (Fischer *et al.* 1999). Sob estas condições, obtém-se um fendilhamento dos tecidos das películas, e, todos os componentes presentes nestas são assim rapidamente libertados para o mosto, havendo o mínimo de alteração dos seus constituintes. Assim podemos obter um processo de maior extracção destes compostos, de maneira a conseguir vinhos mais concentrados em grande escala (Marteau *et al.* 1970). O calor, ao destruir as membranas das células hipodérmicas das películas, liberta para o

meio as antocianinas desnaturando ainda a polifenol oxidase, prevenindo o acastanhamento pela via enzimática (Sacchi *et al.* 2005).

A termovinificação permite uma grande extracção de antocianinas, havendo porém pouca extracção de compostos fenólicos, sendo por isso difícil a natural estabilização da cor (Auw *et al.* 1996).

2.4.2. Flash Détente

A Flash-détente pode ser considerada como uma variação da termovinificação, apresentando porém algumas diferenças ao nível do arrefecimento. Segundo Boulton (1996), consiste em levar as uvas esmagadas rapidamente a uma temperatura elevada, arrefecendo-as quase instantaneamente através de uma câmara de pressão, por vácuo.

Tem como objectivo favorecer a extracção tendo em conta uma fragilização das células das películas da uva, evitando a sua dilaceração.

Segundo Ageron *et al.* (1995) as uvas são desengaçadas sendo 20 a 40 % do mosto esgotado e separado. O restante mosto e uvas são aquecidos, na ausência do ar, à temperatura de 95 °C, permanecendo a essa temperatura durante 1 a 3 minutos, dependendo dos objectivos e do estado das uvas. São depois introduzidos numa câmara de pressão de aproximadamente 25 a 100 mbar, onde a diferença de pressão brusca leva ao rápido arrefecimento do mosto até à temperatura ambiente, sendo aqui que reside a diferença do tratamento. No final, o mosto inicialmente separado é adicionado ao tratado, procedendo depois à fermentação.

2.5. Conceito de Unidade de Pasteurização (UP)

Segundo Flanzy *et al.* (1998), para se obter a eliminação dos microrganismos presentes num vinho, através da pasteurização, é necessário ter em conta dois factores principais: a temperatura de pasteurização e o tempo da aplicação do tratamento. Para um mesmo resultado, é necessário um tempo mais longo a uma temperatura mais baixa ou uma temperatura mais elevada durante menos tempo.

Delvecchio (1971) definiu unidade de pasteurização (UP) como sendo o efectivo poder destrutivo de qualquer combinação tempo / temperatura para determinado microrganismo, em determinado ambiente a uma temperatura constante de 60°C durante 1 minuto.

Define-se portanto Unidade de Pasteurização (UP) a um aquecimento de uma duração de 1 minuto a uma temperatura de 60°C. Fixando um tempo de 1 minuto, o número de UP aplicadas a um vinho vai aumentar em função da temperatura.

Segundo Delfini *et Formica* (2001), podemos observar duas evidências principais:

- i) As UP aumentam geometricamente em função da temperatura.
- ii) Existe uma grande diferença na eficácia do tratamento, consoante a termoresistência dos organismos presentes em cada vinho.

Na realidade a pasteurização de vinho é impossível usando apenas uma única temperatura, pois todo o processo de pasteurização passa por diferentes fases à medida que o aquecimento vai aumentando até à temperatura desejada.

Ball (1957) demonstrou que as temperaturas e tempos usados no processo de aquecimento até à temperatura pretendida também tinham influência e contribuíam para a eliminação dos microrganismos, contando como unidades de pasteurização necessárias para estabilizar o vinho, ainda que em muito pequena proporção.

Podemos visualizar os valores de unidades de pasteurização em função das temperaturas no Quadro 1 definido por Courtoisier (1984).

Quadro 1 – Valor de Unidades de Pasteurização, relativas a cada temperatura por 1 minuto.

°C	UP/min	°C	UP/min	°C	UP/min
40	0,000464	54	0,100	68	21,5
41	0,000681	55	0,146	69	31,6
42	0,001000	56	0,215	70	46,4
43	0,00146	57	0,316	71	68,1
44	0,00215	58	0,464	72	100,0
45	0,00316	59	0,681	73	146,7
46	0,00464	60	1,000	74	215,4
47	0,00681	61	1,460	75	316,2
48	0,01000	62	2,150	76	464,1
49	0,01460	63	3,160	77	681,3
50	0,02150	64	4,640	78	1000,0
51	0,03160	65	6,810	79	1467,8
52	0,04640	66	10,000	80	2154,4
53	0,06810	67	14,600		

A equação do número de unidades de pasteurização por minuto (y) em função da temperatura (x) pode ser definida por $y = 1E-10e^{0,383x}$ e respectivo $R^2 = 1$, deduzida a partir dos dados observados no Quadro 1, obtidos por Courtoisier (1984).

As UP necessárias em cada produto dependem bastante dos diferentes factores que variam de produto para produto.

Em vinhos, devido essencialmente à existência de álcool, baixo pH e de dióxido de enxofre, este estará mais protegido e por isso as temperaturas e número de unidades de pasteurização poderão ser relativamente menores em comparação com os mostos e produtos alimentares em geral (Walls *et* Chuyate 1998).

Segundo Delfini *et* Formica (2001), o valor proposto para vinhos doces, sob o pior caso de contaminação possível (10^5 células/ml, baixo valor de dióxido de enxofre e presença de microrganismos resistentes) é de 21 Unidades de Pasteurização. O mesmo investigador sugeriu ainda que por exemplo, um vinho contendo 60/70 g/L de açúcar residual, 14% de álcool, 40 mg/L de dióxido de enxofre e uma população microbiana de 10^8 células/ml teoricamente precisava de 21 UP, mas seria sempre mais adequado o uso de 46 UP, equivalente a manter o vinho a 70°C durante 1 minuto.

Tarantola (1967) refere que 50°C durante 25 minutos seria normalmente suficiente na prevenção de qualquer tipo de fermentação num vinho comum.

Segundo estudos realizados por Malletroit *et al.* (1991), um tratamento inferior a 3 UP seria suficiente para reduzir uma concentração de leveduras de 10^6 células/ml até níveis considerados seguros.

Segundo Devèze *et* Ribéreau-Gayon (1978) na prática, o número de unidades de pasteurização utilizado deverá ser de 2 a 10 vezes superior ao estudado em laboratório, devido à existência de diferentes características nos vários vinhos, tipos de pasteurizadores e técnicas utilizadas.

Cada utilizador pode fazer variar a temperatura de pasteurização e o tempo a que se manterá a esta temperatura (tempo de aquecimento ou estabilização) (Brugirard *et* Guittard 1988; Flanzky *et al.* 1998).

Por outro lado, segundo Brugirard *et* Rochard (1991), na prática, o valor de unidades de pasteurização considerado para uma boa estabilização é de 150 UP, muito superior ao considerado por Courtoisier (1984) anteriormente referido e apresentado no Quadro 1. Neste caso, uma temperatura de 72°C associada a um tempo de 20 segundos pode ser considerada como uma base de trabalho em vinhos que apresentem uma quantidade de microrganismos considerada normal.

Segundo Flanzky *et al.* (1998), pensa-se que um tempo de 20 segundos para temperaturas superiores a 78°C pode afectar a qualidade do vinho sendo que o seu potencial de envelhecimento poderá decrescer bastante.

Como verificado, cada autor tem a sua apreciação das temperaturas e tempos usados na obtenção de um bom resultado dos tratamentos térmicos. Torna-se por isso difícil a nossa conclusão de qual o rumo a tomar, sendo por isso de extrema importância o estudo das várias possibilidades a ter em conta e dos efeitos causados no vinho em cada uma delas. É portanto interessante e necessário conhecer o tipo de vinho que se pretende tratar, para então poder escolher o melhor tratamento a usar, sem afectar a sua qualidade e obter um bom resultado.

2.6. Funcionamento e execução da Pasteurização flash

O conhecimento do funcionamento de um Pasteurizador é extremamente importante para se obter um bom tratamento do produto. O uso desta tecnologia é bastante prático, sendo de fácil utilização, pois um pasteurizador flash é um material de concepção simples e fácil de usar, sendo mesmo a sua necessidade energética bastante baixa, pois a grande parte do calor que aquece o vinho é recuperado cruzando em contra corrente vinho já quente e vinho a ser tratado (Figura 5).

É por isso necessário ter disponível uma fonte de água quente para ligar ao pasteurizador que, normalmente existe na forma de caldeira eléctrica ou a gás.

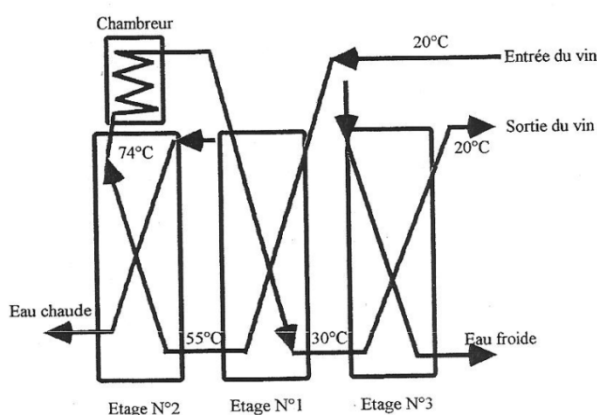


Fig.5 – Esquema de um aparelho de Pasteurização Flash (*in* Flanzky et al. 1998)

Para que o tratamento seja feito de acordo com o estipulado (temperaturas e tempos pretendidos) é necessário que os materiais estejam sempre bem cuidados sendo o sistema de regulação da temperatura e o regulador de caudal as partes mais delicadas, caras e que necessitam de maior atenção, devendo estar sempre bem afinados e regulados, trazendo bastante precisão e fidelidade no trabalho.

2.7. Aplicações da Pasteurização / Estabilização de vinhos

O interesse da pasteurização é inquestionável para que o produtor possa eliminar, em qualquer momento da vida de um vinho, um risco microbiológico ou enzimático sem perder as características organolépticas presentes ou vindouras de cada vinho (Pilone 1953). Pode ser usado como complemento ao uso de produtos de origem química, sendo porém sempre necessário o uso de sulfuroso mesmo que em doses pequenas, evitando as oxidações e ainda melhorando a eficácia do tratamento térmico. (Devèze *et* Ribéreau-Gayon 1978).

Segundo Crettenand (1978) e Gunata *et al.* (1988) a pasteurização pode ainda ser usada no caso de vinificação de uvas que apresentem problemas sanitários, em anos imprevisíveis ou em castas muito susceptíveis a problemas de podridão, reduzindo a dose de sulfuroso necessária. Tem a vantagem de se esterilizar logo o mosto à entrada na adega, usando assim uma levedura seleccionada na fermentação alcoólica ou mesmo em vinhos onde a fermentação é difícil ou quando existe um amuo de fermentação, para que não haja um ataque por organismos indesejados e a perda de qualidade do vinho.

Segundo trabalho desenvolvido por Pocock *et al.* (2003), é possível utilizar a acção do calor na estabilização proteica dos vinhos, usando-o em conjunto com enzimas proteolíticas. Assim reduzem-se as quantidades de colas usadas, nomeadamente a bentonite que é a mais correntemente usada (Dawes *et al.* 1994), levando a menores perdas de vinho, menor quantidade de resíduos de bentonite e possivelmente algumas melhorias do vinho em termos sensoriais (Hsu *et* Heatherbell 1987; Rankine 1989; Hoj *et al.* 2001).

Segundo Flanzly *et al.* (1998) a pasteurização é usada há mais de 20 anos industrialmente, tendo bons resultados em termos de esterilização, mantendo as qualidades organolépticas em vinhos de toda a natureza. A sua aplicação faz-se normalmente em vindimas de grande escala, uvas contaminadas e principalmente em vinhos prontos a engarrafar, podendo ser complementada pelo engarrafamento a quente.

3. Acção da temperatura sobre as características do vinho

A escolha da temperatura e do tempo de aquecimento depende do alvo procurado (tipo de vinho).

Será portanto necessário ter em conta as características do vinho, onde intervêm factores como o grau alcoólico, o pH e a taxa de SO₂, tendo em conta a dissociação das combinações do SO₂, sendo que, quando a temperatura aumenta, o seu poder anti-séptico também aumenta (Splittstoesser *et al.* 1975; Ribéreau-Gayon *et al.* 1998; Jackson *et al.* 2008).

3.1. Microbiológica

Para que um produto alimentar seja seguro para o consumidor, é necessária a eliminação ou inibição dos microrganismos indesejáveis, permitindo assim um maior tempo de conservação e uma maior estabilidade do produto, neste caso o vinho (Parton *et al.* 2007). O principal objectivo dos tratamentos térmicos é a eliminação das leveduras e bactérias, existindo porém uma grande acção secundária exercida sobre outros compostos do vinho.

3.1.1. Estabilidade Microbiológica

Segundo Amerine *et al.* (1970), a multiplicação de microrganismos no vinho pode originar tanto maus aromas como turvações e sedimentos. É portanto necessária a sua estabilização ao nível microbiológico para que não haja problemas de refermentações em garrafa e ainda para tentar reduzir as quantidades de dióxido de enxofre usadas, para certos mercados de exportação.

O tratamento do mosto pelo calor tem uma acção destrutiva a nível da microflora indígena. Tendo em conta o grau alcoólico, o pH e a presença ou não de dióxido de enxofre, podemos constatar uma certa facilidade para obter, através de um aquecimento relativamente limitado (60°C durante 30 segundos) a esterilização absoluta (Splittstoesser 1975).

Pelo contrário, sabe-se que é difícil manter esse vinho estéril, tendo em conta as condições da maior parte das adegas, havendo por isso um grande risco de recontaminação. Podemos ainda utilizar este método aquando do engarrafamento, havendo porém outras possibilidades de estabilização, em particular a sulfitação, o dimetildicarbonato e a filtração esterilizante.

Cada microrganismo tem determinada resistência. É necessário controlar as populações de leveduras e bactérias, sendo por isso importante conhecer a sua resistência aos tratamentos:

Leveduras – abaixo de temperaturas entre 5 a 8°C, a sua multiplicação é difícil. Acima de temperaturas entre 33 a 35°C, o metabolismo da fermentação alcoólica é bloqueado. A destruição das leveduras pelo calor depende do tempo de tratamento e de temperaturas da ordem dos 50 e 60 °C.

Bactérias – Ao contrário das leveduras, estas são muito mais sensíveis a baixas temperaturas (limite entre 12 e 15 °C). São assim menos sensíveis a temperaturas elevadas.

3.1.2. Termoresistência dos microrganismos

Como já foi referido, a pasteurização visa a eliminação dos microrganismos (leveduras e bactérias). Segundo Splittstoesser (1975); Devèze et Ribéreau-Gayon (1977); Walls et Chuyate (1998); Jackson (2008), cada microrganismo tem determinado nível de resistência ao calor, que se deve a três principais factores:

- Natureza do microrganismo: a termoresistência é muito variável dependendo da espécie ou mesmo da estirpe considerada.

- Idade do microrganismo: a termoresistência aumenta com a idade.

- Condições do meio: Certos factores, próprios de cada vinho ou mosto, são protectores (pH altos, presença de açúcares), outros facilitam a esterilização (riqueza em álcool, pH baixo, presença de SO₂, taninos)

Um quarto factor deverá ser considerado. Tem a ver com a população de microrganismos existente no vinho a tratar, variando na dificuldade da sua eliminação consoante o seu tamanho e tipo.

Para obter a destruição térmica dos microrganismos teremos de considerar dois principais factores: a temperatura de pasteurização e o tempo durante a qual é aplicada.

A eliminação de cada tipo de microrganismos depende das temperaturas usadas nos tratamentos, consoante a sua maior resistência ou não e a sua adaptação ao meio.

Segundo Delfini et Formica (2001) para evitar o aparecimento de microrganismos resistentes às temperaturas usadas nos tratamentos térmicos, devemos fazer um uso muito cuidado do tratamento, como se fosse qualquer outro de comum utilização, como por exemplo o uso do sulfuroso. Assim, os tratamentos térmicos deverão ser feitos cuidadosamente com a preocupação de que, quando aplicados, nenhum organismo se mantenha vivo podendo causar depois problemas, caso se multiplique.

Existem várias possíveis razões para o aparecimento de microrganismos resistentes. Podem aparecer focos de contaminação nos sistemas, encontrando-se leveduras, bactérias e ainda resíduos de vinho ou uma espécie de resíduos de mosto caramelizado, podendo servir de suporte ao crescimento dos microrganismos que resistem às altas temperaturas da pasteurização. Tudo isto é muito importante pois uma vez um vinho contaminado com estes organismos torna-se quase impossível a sua remoção, sem afectar de alguma maneira o vinho, perdendo qualidade e persistindo como uma normal fonte de contaminação.

Para que problemas de contaminações graves não aconteçam, é portanto necessário saber como utilizar a tecnologia, sendo a melhor prevenção, a correcta sanitização de quaisquer aparelhos de tratamento térmico ou pasteurização de vinhos/mostos. Podemos mesmo tentar ter uma melhor configuração de utilização do aparelho, havendo menos locais possíveis para o aparecimento de resíduos.

3.2. Química

3.2.1. Enzimas

Segundo Brugirard *et* Guittard (1988) uma temperatura elevada favorece a agitação molecular que intervém na adesão das enzimas ao seu substrato e consequente melhor actividade enzimática. Quando se chega a um certo nível de temperatura, as enzimas são eliminadas por coagulação da sua estrutura proteica, sendo o nível de temperatura dependente de cada tipo de enzima. O pH do vinho também influencia bastante a eficácia dos tratamentos, por exemplo: a pH3, cinco minutos de aquecimento a 65°C, destroem 80% da actividade enzimática, enquanto a pH 4 apenas se verifica uma perda de actividade de 60%.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (1976) a acção da temperatura sobre a actividade oxidásica, ou seja, a destruição das enzimas de oxidação – lacase e tirosinase – é conseguida pelo tratamento térmico. O calor permite a destruição destas enzimas e por conseguinte a inibição das reacções que elas catalisam, sendo destruídas por um aquecimento de alguns minutos a 60 / 70°C.

A acção do calor não se reflecte apenas nas oxidases. Todas as enzimas são de algum modo afectadas, em particular, as enzimas pectolíticas. Segundo Villetaz (1987), as enzimas pectolíticas existem nas uvas em quantidades por vezes demasiadamente pequenas para serem eficazes. O aquecimento do mosto a certas temperaturas aumenta a sua actividade, sendo porém que, a elevadas temperaturas reduz ou mesmo inibe.

Assim, segundo Dubourdieu *et* Ribéreau-Gayon (1977), a elevadas temperaturas há uma inibição das enzimas pectolíticas, levando a uma maior dificuldade no caso de vinhos novos, na extracção de aromas e, principalmente na sua clarificação. No entanto, é sempre possível tratar os mostos com enzimas pectolíticas comerciais. A *beta-glucosidase* e enzimas pectolíticas são destruídas a temperaturas superiores a 70°C.

3.2.2. Proteínas

A natureza das proteínas existentes nos vinhos tem efeitos relevantes na sua estabilidade e clarificação, influenciando a sua tendência natural para precipitar, bem como a sua afinidade com várias colas e agentes de sedimentação (Lamikanra *et* Inyang 1988).

O aquecimento a temperaturas elevadas coagula as proteínas dos vinhos, podendo levar à sua desnaturação (Pilone 1953; Ribéreau-Gayon 1998). Segundo Pocock *et al.*

(2003), o aquecimento de vinhos a médias e altas temperaturas reduz a quantidade de proteínas no vinho e por isso reduz o uso da quantidade de bentonite na sua estabilização.

Porém, segundo Krug (1968) a existência de turvação proteica não está apenas ligada ao teor de proteínas existente no vinho, pois depende também de factores do próprio vinho como o pH, a presença de compostos como flavanóis e alguns metais, bem como das interações existentes entre elas e outros compostos. São usadas como núcleos onde o cobre, ferro e sais se depositam, e após desnaturação, podem flocular e formar suspensões e depósitos. Segundo Lamikanra *et Inyang* (1988), além destas reacções, certas proteínas podem também intervir em reacções não enzimáticas de acastanhamento oxidativo. O tratamento térmico pode ter um efeito de desnaturação, levando assim a que por outros processos, possa haver uma maior turvação.

3.2.3. Formação de colóides protectores

A formação de colóides protectores é uma outra consequência do calor, merecendo uma mais profunda análise. Os vinhos brancos e tintos que são aquecidos apresentam geralmente, após arrefecimento, propriedades que se assemelham à de um vinho resultante da adição de um colóide protector típico, tal como a goma-arábica (Brugirard *et Guittard* 1988; Pilone 1953).

Segundo Garoglio (1953); Pilone (1953); Jackson *et al.* (2008) a formação de colóides protectores devido ao calor, impede a insolubilização do cobre ou as temperaturas altas eliminam o componente proteico, inibindo a formação de complexos cuprosos, responsáveis pela turvação.

3.2.4. Microcristais - estabilidade dos tartaratos

A dissolução dos aglomerados de cristalização (microcristais de bitartarato de potássio e eventualmente de tartarato de cálcio) é assegurada pelos tratamentos térmicos.

O vinho novo constitui uma solução sobressaturada de sais de ácido tartárico. É a partir dos aglomerados de cristalização que se formam os cristais de maior tamanho, precipitando. A acção do calor vai fazer com que essa aglomeração e posterior precipitação não se dê, assegurando a estabilização dos tartaratos (Ribéreau-Gayon *et al.* 1976).

Segundo Brugirard *et Guittard* (1988); Flanzy *et al.* (1998) & Brugirard *et Rochard* (1991), mesmo em vinhos já passados a frio e supostamente estabilizados, podem por vezes haver resíduos de microcristais que poderão servir como activadores da cristalização, sendo este problema ultrapassado através da sua dissolução a quente. Desta forma, é uma vantagem complementar importante da pasteurização dos vinhos.

3.2.5. Cor e compostos fenólicos

A cor é um parâmetro de difícil análise, pois pouca informação existe sobre a sua alteração pelas altas temperaturas. Está relacionada com os teores em antocianinas e sua estabilidade por ligação aos compostos fenólicos, nomeadamente os taninos mas também depende da própria natureza das antocianinas.

Segundo Fuleki *et al.* (2003) o tratamento por pasteurização em mosto leva a um aumento da maior parte das procianidinas. Segundo Dallas *et al.* (1995); Ferreira *et al.* (1992); Porter (1992); Vidal *et al.* (2002) este aumento pode ser devido à ocorrência de reacções de degradação térmica, despolimerização e polimerização dos flavan-3-ols durante o tratamento por pasteurização.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* (1976); Pilone (1953) existe uma certa modificação da cor e de gosto dos vinhos após um aquecimento prolongado, demonstrando um certo envelhecimento. É porém necessário um tratamento de um número elevado de unidades de pasteurização para que ocorra o acastanhamento da cor dos vinhos (Malletroit *et al.* 1991).

Segundo Somers *et al.* (1986), quando comparados dois vinhos ao longo do tempo, sendo um pasteurizado e outro apenas filtrado, não ocorrem diferenças ao nível dos compostos da cor. O acastanhamento dos vinhos é possivelmente devido à acção do oxigénio dissolvido no vinho sendo aumentada a sua acção oxidativa pelo efeito do calor (Pilone 1953).

A perda de cor ou o seu acastanhamento pode ter a ver com reacções de degradação das antocianinas pelo calor ou ainda da sua dificuldade de estabilização (Van Buren *et al.* 1968). Nas reacções de degradação, as antocianinas livres são alteradas pelo calor, sobretudo a malvidina, sendo também alteradas por oxidação, havendo maior ou menor efeito dependendo da sua natureza (Robinson *et al.* 1966). Nas reacções de estabilização, a perda de cor deve-se essencialmente às ligações entre os taninos e as antocianinas não ocorrerem (Berg 1963), dependendo estas reacções das condições do meio, principalmente, da temperatura e da oxidação, mas também da própria natureza dos taninos, Ribéreau-Gayon *et al.* (1998).

O acastanhamento oxidativo constitui um grande problema em vinificação e o dióxido de enxofre é normalmente usado como antioxidante no controlo deste problema. Porém, devido aos problemas que pode provocar, nomeadamente de saúde como reacções alérgicas, tem-se verificado uma tentativa de redução das quantidades usadas em vinhos.

Por isso, é necessário conhecer os mecanismos das reacções de acastanhamento oxidativo, para que se possam descobrir novas técnicas ou produtos antioxidantes, na tentativa de reduzir o acastanhamento dos vinhos.

As vias de oxidação podem ser através de enzimas ou não. A principal causa das perdas de cor é a o acastanhamento pela via enzimática pela polifenol oxidase, sendo a sua actividade dependente do teor de oxigénio presente nos vinhos (Rahman 1999).

Pela via não enzimática são os metais Ferro e Cobre que estão ligados à ocorrência desta oxidação, sendo que também os aminoácidos presentes no vinho podem ser os precursores do acastanhamento (Garde-Cerdán *et al.* 2007). O acastanhamento pela via enzimática ocorre normalmente em mosto e pode ser controlado através do controlo dos teores de oxigénio no vinho. Porém, o acastanhamento pela via não enzimática ocorre normalmente em vinhos já fermentados, essencialmente dependendo da presença ou não de ferro e cobre, podendo por isso haver um maior controlo do acastanhamento se controlarmos também a presença destes metais. (Li *et al.* 2007).

3.2.6. Compostos voláteis e outros constituintes dos vinhos

Segundo Brugirard *et* Rochard (1991), existem algumas alterações relativamente aos elementos do vinho, principalmente a nível de Álcool, SO₂, Açúcares, Ácido metatartárico e Oxigénio dissolvido.

Ao nível do **Álcool**, existem perdas na ordem de 0°03 a 0°15, dependendo do método, temperaturas e tempos usados.

Os **Açúcares** sofrem também alteração, variando a intensidade dessa alteração, consoante o tipo de açúcar existente, sendo a frutose bastante mais sensível do que a glucose.

Quanto ao **Ácido Metatartárico**, é um produto usado para evitar a precipitação dos tartaratos e pode ver o seu efeito diminuir caso tratamento a temperaturas elevadas, sendo que um tratamento de flash pasteurização não diminui a sua actividade.

A Acção conjugada da temperatura e do **Oxigénio** também apresenta algumas considerações. O tratamento dos vinhos com calor deverá ser feito ao abrigo do ar, evitando oxidações, sua acção sobre os polifenóis e eventual modificação de cor e gosto. Porém em alguns vinhos doces como o Madeira existe o processo de Estufagem onde o oxigénio está presente, acelerando o seu envelhecimento e originando um certo gosto caramelizado.

3.2.7. A utilização de dióxido de enxofre e os tratamentos térmicos

Como já foi referido, podemos usar métodos de pasteurização em vinhos mais doces ou com algum açúcar residual, mais sujeitos a ataques microbiológicos. Assim temos a vantagem de não usar uma dose tão elevada de SO₂, prejudicial à saúde humana, às características qualitativas do vinho e mesmo ao gosto do consumidor.

Segundo Brugirard et Rochard (1991), em vinhos novos o aquecimento pode ser utilizado para complemento do efeito de sulfitação. Os tratamentos térmicos são complementares ao uso do SO₂, pois a pasteurização permite reduzir notavelmente as suas doses de utilização e a acção da temperatura faz ainda aumentar o teor em SO₂ livre, pois uma parte do SO₂ combinado é libertada pelo calor (Jackson *et al.* 2008). É porém inquestionável o uso do SO₂ devido à sua polivalência de actuação e ao seu baixo preço.

Apesar de tudo, caso as doses de SO₂ diminuam, também se alteram as características do vinho a que o consumidor está habituado. Porém, cada vez mais, é o consumidor o juiz final de avaliação da qualidade de um vinho, sendo quem o compra.

Assim, na enologia moderna, a higiene e segurança alimentar tem cada vez mais peso como um factor de qualidade, tendo o produtor de encontrar as melhores técnicas de vinificação para agradar ao consumidor e assim conseguir vender o seu produto.

3.2.8. Outras Modificações / Envelhecimento nos vinhos

Um outro efeito do tratamento de vinhos pelo calor tem a ver com as modificações de cor e de gosto após um aquecimento prolongado, demonstrando um certo envelhecimento (Ribéreau-Gayon *et al.* 1976); Francis *et al.* (1994).

Segundo Pilone (1953) a acção do calor sobre o vinho leva a uma aceleração dos processos de envelhecimento. Maior rapidez dos processos de esterificação, mais rápida oxidação e mais rápida precipitação dos taninos e substâncias da cor.

Segundo Brugirard et Rochard (1991), a maior parte das reacções físico-químicas (esterificação e oxidação), são favorecidas por um aumento da temperatura. Estes fenómenos aos quais se juntam a acção da temperatura sobre as enzimas explicam que o envelhecimento de um vinho seja geralmente acentuado pelas temperaturas mais elevadas.

Segundo Ribéreau-Gayon *et al.* 1977), este tipo de aquecimento por vezes realizado na presença do ar aporta um efeito de madeirização, que leva à formação de aldeídos, acetals e de outros compostos aromáticos, trazendo a característica de ranço. Tais práticas são normalmente usadas em certos tipos de vinho especiais, como o vinho Madeira ou vinho do Porto, onde o nível de aquecimento poderá ser superior, por exemplo 60 dias a 60°C.

Pelo contrário, a permanência durante dois meses entre 18 e 20 °C de garrafas de vinho tinto de qualidade, conduz a um equilíbrio gustativo que, a temperaturas mais baixas seria atingido apenas em um ou dois anos, (Castino 1981; Rapp 1993; Aldave *et al.* 1993; González *et al.* 1994; Santamaria *et al.* 1995 e Ribéreau-Gayon *et al.* 1998).

Tendo em conta uma eventual alteração organoléptica, mesmo ligeira, esta técnica aplica-se melhor em vinhos de qualidade média que aos de superior qualidade (Ribéreau-Gayon *et al.* 1998).

3.3. Efeitos sensoriais dos tratamentos térmicos

O maior problema em aceitar o uso corrente dos tratamentos térmicos em vinhos é o seu possível efeito sobre as características gustativas dos vinhos de qualidade, nomeadamente o designado gosto a cozido ou ainda a possível maior rapidez de envelhecimento dos vinhos. Segundo Pilone (1953) este tipo de problemas podem ocorrer caso a concentração de oxigénio dissolvido no vinho, aquando do tratamento, seja elevada.

Os tratamentos pela acção do calor têm influência em todas as moléculas e compostos existentes no produto tratado, influenciando cada um deles, melhorando ou piorando as características do produto.

Do ponto de vista organoléptico, o aquecimento do mosto pode originar desvios dos fenómenos fermentativos, com formação de aromas secundários prejudiciais (Marteau 1967; Ribéreau-Gayon *et al.* 1976 & Garde-Cerdán *et al.* 2007). Existem porém processos como a flash-pasteurização que, ao permitir levar o mosto rapidamente a 70-80°C, seguida de um arrefecimento rápido, minimiza as alterações de aromas (Malletroit *et al.* 1991). Caso as temperaturas e tempos usados não sejam demasiado elevados, não existem alterações dos vinhos ao nível aromático (Pocock *et al.* 2003).

Contudo, caso as temperaturas sejam elevadas, existe uma pequena perda de constituintes voláteis que podem também influenciar as características aromáticas dos vinhos (Rahman 1999).

Uma das características dos vinhos provenientes de mostos tratados pelo calor é a sua estabilidade. A destruição das oxidases, permite uma cor mais estável e uma limpidez maior, quando em contacto com o ar. O calor permite ainda a eliminação das proteínas por coagulação, havendo uma maior estabilidade proteica do vinho (Ribéreau-Gayon *et al.* 1977).

A acção da temperatura leva a importantes perdas aromáticas muito superiores à filtração esterilizante, se bem que esta também retém certos compostos sendo porém em muito menor quantidade (Hoffman *et al.* 1980; Villetaz 1988; Neradt 1990)

No vinho acabado, a temperatura de conservação exerce uma grande influência na manutenção dos aromas dos vinhos jovens (Castino 1981; Rapp 1993; Aldave *et al.* 1993; González *et al.* 1994; Santamaria *et al.* 1995).

Segundo os resultados obtidos por Aleixandre *et al.* (1996) comparando alguns compostos aromáticos ao longo da conservação entre um vinho filtrado e um pasteurizado,

concluiu que o teor inicial em compostos aromáticos é menor nos vinhos pasteurizados bem como a sua diminuição ao longo do tempo de conservação.

Segundo Brugier et Rochard (1991), os gostos a cozido podem ser devidos a um número de unidades de pasteurização (UP) demasiado elevados, porém pode também ser proveniente de material mal lavado com presença de depósitos que se caramelizam.

Segundo Devèze et Ribéreau-Gayon (1978), é portanto necessário haver uma boa higienização do equipamento sendo a melhor forma o uso de vapor a alta temperatura, permitindo a completa esterilização e dissolução dos resíduos. Se o tratamento for bem feito não haverá problemas, aparecendo o aroma a cozido ou caramelizado apenas caso as temperaturas sejam extremas.

Segundo os trabalhos desenvolvidos por Parton *et al.* (2007), deverá ser interessante estudar novos métodos alternativos de pasteurização na tentativa de minimizar a sua influência nas características sensoriais do vinho, como é o caso da pasteurização com CO₂ sob pressão que apresenta excelentes resultados no controlo dos microrganismos sem afectar a qualidade.

4. Alternativos ao uso da Pasteurização

4.1. Dióxido de enxofre

Para poder suportar todas as manipulações durante o processo de vinificação, transporte necessário à sua comercialização e exportação, o vinho necessita da ajuda de um conservante.

O dióxido de enxofre é um produto de conservação muito antigo, porém o seu emprego nos vinhos e as boas regras da sua utilização começam agora a preocupar o consumidor e, por conseguinte o produtor tem de estar atento às doses aplicadas.

O dióxido de enxofre é um produto bastante utilizado em enologia. Uma das suas aplicações é ser usado em doses mais elevadas, prevenindo a acção dos microrganismos, bactérias e leveduras, apesar de não se saber bem a sua sensibilidade ao sulfuroso e eficácia do seu tratamento (Boulton *et al.* 1996).

O emprego do dióxido de enxofre, principalmente em vinhos que apresentam algum açúcar residual é uma prática que pode ser atenuada usando outros métodos alternativos como a Pasteurização, que garante a estabilidade microbiológica, usando-se assim uma menor dose de dióxido de enxofre.

4.2. Dimetil dicarbonato (DMDC)

O DMDC pode ser usado como conservante, inibindo a acção dos microrganismos. É uma boa alternativa caso não seja possível o uso da pasteurização ou de outras alternativas possíveis. Segundo Wurdig (1978), o DMDC permite a estabilização microbiológica não havendo o risco de recontaminações eliminando ainda os microrganismos presentes na rolha e garrafa. Há porém a formação de ligeiros teores de metanol, que, caso o uso do produto não seja cuidado, existe o risco de aparecimento de doses elevadas deste álcool prejudicial à saúde humana.

Segundo Boulton *et al.* (1996), o DMDC tem uma acção rápida, não sendo um produto residual. Tem o nome comercial de Velcorin, sendo necessárias doses e técnicas de aplicação cuidadas aquando da sua aplicação.

Segundo (Ough *et al.* 1988; Winniczuck *et al.* 1997; Delfini *et al.* 2002) as bactérias lácticas são mais resistentes ao DMDC do que as leveduras. Assim, segundo Costa *et al.* (2008) na prática, o uso de DMDC na dose máxima permitida pode ser considerado como um conservante eficiente no controlo de contaminações de leveduras, mas ineficaz no controlo de bactérias lácticas e acéticas.

4.3. Filtração esterilizante

Segundo Jacob *et al.* (1964) o processo físico de pasteurização como meio de estabilização microbiológica de vinhos pode provocar uma alteração de aromas.

A filtração esterilizante constitui uma alternativa ao seu uso tendo vantagens e inconvenientes, como todas as técnicas, sendo a principal desvantagem, possíveis recontaminações após tratamento, principalmente na linha de engarrafamento (Hood *et al.* 1977; Wurdig 1978).

Segundo Boulton *et al.* (1996), o uso de filtros esterilizantes é bastante praticado em vinhos. Na prevenção da acção microbiana em vinhos engarrafados, cada vez existe maior sensibilidade para o uso de menores doses de aditivos químicos, sendo desejável usar cada vez menos ou menores doses de dióxido de enxofre, suportando assim a utilização dos métodos físicos como é o caso da filtração. O uso de filtração no controlo dos microrganismos representa um método eficaz e uma boa alternativa. Os tratamentos térmicos, apesar de eficazes podem influenciar alguns aromas e a estabilidade da cor em vinhos tintos. A filtração, quando muito severa pode também ter influência ao nível da qualidade dos vinhos Jackson *et al.* 2008).

X. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material utilizado

1.1. Adega

O ensaio foi realizado na Adega Cooperativa de Freixo de Espada a Cinta que se situa na Freguesia e Concelho de Freixo de Espada a Cinta, delimitando superiormente a Região Demarcada do Douro, Sub-Região Douro Superior.

Possui cerca de 600 associados, produzindo anualmente cerca de 2 milhões de litros (Mesa, DOC e Porto).

Os vinhos produzidos apresentam elevada qualidade, ou seja, boa intensidade de cor, bons aromas e bastante estrutura de boca, sendo uma Adega de grande sucesso na região e no País.

1.2. Filtro

O vinho usado no ensaio foi submetido a uma filtração em filtro de lentilhas ou cartuchos lenticulares (Anexo 2). A filtração por lentilhas é realizada através da utilização de um sistema de filtração sobre módulos lenticulares.

Segundo Gervais (1995), os módulos são constituídos por lentilhas sobrepostas, ao longo de uma coluna central que as suporta e colecta o filtrado. Um módulo lenticular é por si próprio uma unidade de filtração independente e de superfície conhecida, sendo que o seu empilhamento numa mesma campânula de filtração, permite obter o débito desejado na filtração. O meio filtrante das lentilhas é constituído por uma mistura de fibras de natureza sintética ou celulósica.

1.3. Pasteurizador

O Pasteurizador usado no ensaio é um pasteurizador de placas, de capacidade 3000 litros/hora, de marca REDA (Anexo 3).

Consiste num permutador simples de calor, ligado a uma caldeira de vapor de água. A água quente passa em contra corrente com o vinho, aquecendo-o até à temperatura prevista. Possui ainda a possibilidade de permutar o vinho já quente em contra corrente, arrefecendo-o e aquecendo o seguinte, sendo este sistema utilizado no arrefecimento do vinho até à temperatura de engarrafamento e poupando alguma energia.

1.4. Vinhos usados no ensaio

No ensaio efectuado foi utilizado um vinho tinto D.O.C. Douro do ano 2008. Os vinhos foram obtidos de uvas entregues pelos sócios da Adega Cooperativa, tendo sido seleccionadas as melhores uvas. As castas utilizadas foram várias, nomeadamente em maior percentagem a Tinta Amarela, Tinta Barroca, Tinta Roriz, Tinto Cão, Touriga Franca, Touriga Nacional e Castelão.

As uvas foram vinificadas em cubas de inox de 30.000 L com remontagem automática e recurso a delèstages, a temperatura controlada de 28°C, tendo o tempo de fermentação sido de aproximadamente 12 dias.

Após ter-se dado a fermentação alcoólica, o vinho foi passado a limpo (2 a 3 dias depois), tendo então começado a FML espontânea. O vinho foi depois submetido a um tratamento de colagem usando uma cola mista (gelatina e bentonite), não tendo sido estabilizado tartaricamente. O vinho foi armazenado em depósito de inox, tendo sido engarrafado 10 meses depois e adicionada goma-arábica e ácido metatartárico ao engarrafamento.

O ensaio foi feito a partir de um vinho de Lote de 195.000 litros, tendo sido engarrafados 7500 L e recolhidas 24 garrafas de 0,75 L do vinho submetido a pasteurização e engarrafamento a quente (Pasteurizado) e 24 garrafas de 0,75 L do vinho não tratado (Testemunha).

2. Métodos de tratamentos térmicos utilizados

Neste ensaio, usou-se um misto entre a flash-pasteurização e o engarrafamento a quente, tentando minimizar os efeitos da acção do calor sobre os compostos do vinho, tendo a certeza de estabilidade microbiológica e ainda completa esterilização da garrafa e rolha durante e após o engarrafamento.

Deste modo retiraram-se amostras às duas modalidades diferentes: Uma modalidade onde o vinho foi apenas Ultra-Filtrado (Testemunha) e outra modalidade onde o vinho foi submetido a Ultra-Filtração e à Pasteurização/Engarrafamento a Quente (Pasteurizado).

A Pasteurização/Engarrafamento a Quente foi feita deste modo misto. O vinho, após filtração, foi levado à temperatura de 90°C, tendo-se mantido a essa temperatura durante 3 a 6 segundos, sendo depois arrefecido até aos 50 a 55°C, temperatura a que foi para uma cuba pulmão e logo para as garrafas.

No engarrafamento foi necessário o enchimento até ao nível da rolha, usando uma rolha o mais curta possível, pois como foi feito a quente, para que o nível de vinho não

ficasse abaixo da cápsula foi necessário proceder desta forma, devido à contração das partículas do vinho a temperatura mais baixa, baixando o nível do enchimento após arrefecimento.

O processo de Pasteurização teve os seguintes passos:

1 - Fase de aquecimento; 2 - Fase de temperatura constante (estabulação); 3 - Fase de arrefecimento por permutador; 4 - Fase de arrefecimento em garrafa.

Poderíamos calcular o número de unidades de pasteurização usado, sabendo assim se o tratamento é considerado severo ou corresponde aos valores aconselhados pela bibliografia. Porém não existem dados precisos dos tempos usados em cada fase da pasteurização pois é algo de difícil conhecimento. Segundo Loncin (1976); Devèze et Ribéreau-Gayon (1978), em cada fase do processo existem variações de velocidade do vinho que não são controladas pelo utilizador, tendo por isso sido os cálculos realizados aproximadamente.

Todo o processo foi realizado a pressão constante de 3 bar, sendo assim mais preciso e rápido a atingir as temperaturas desejadas.

Assim, considerando o quadro anteriormente referido por Courtoisier (1984) (Quadro 1) e tendo em conta a equação $y = 1E-10e^{0,383x}$ determinada podemos calcular um valor de UP aproximado (Quadro 2).

Quadro 2 – Fases da Pasteurização, temperaturas, tempos e unidades de pasteurização respectivas, para determinação do total de UP do tratamento.

Fase	Temperatura (°C)	Tempo (s)	UP
1	20 °C a 90 °C	15	~ 1,5
2	90 °C	6	~ 155
3.1	90 °C a 55 °C	15	~ 3
3.2	55 °C	180	~ 0,5
4	55 °C a 20 °C	1200	~ 1

Tomando os tempos indicados para cada fase como aproximados, podemos constatar que temperaturas abaixo de 60 °C têm pouca influência no n.º de UP, sendo que quando o vinho é mantido mesmo durante apenas 6 segundos a temperatura de 90 °C, sofre um n.º de UP próximo de 161 UP. Este valor encontra-se muito acima do considerado por Courtoisier (1984) de 20 a 40 UP e ligeiramente acima do valor considerado por Flanzky *et al.* (1998) de 150 UP. Apesar de valores aproximados, devemos ter em atenção de que o tratamento com esta intensidade de UP é demasiado severo, podendo influenciar bastante, determinados constituintes do vinho, nomeadamente a cor e os compostos fenólicos.

Tão elevado valor deve-se principalmente ao uso de uma temperatura demasiado elevada mesmo que durante poucos segundos, sendo que as restantes fases contribuem muito pouco para este valor. Podemos por isso tentar usar uma temperatura ligeiramente inferior, da ordem dos 77 °C baixando o valor de UP para metade e havendo também estabilidade.

3. Análise físico-química dos vinhos

3.1. Caracterização geral – Análise sumária

As análises físico-químicas foram todas realizadas no Laboratório Ferreira Lapa, Departamento de Agro-Indústrias e Agronomia Tropical do Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. Foram primeiramente efectuadas as análises base de caracterização de um vinho tinto, correspondentes à análise sumária dos vinhos em estudo, tendo sido feitas duas repetições para cada análise.

Nos Quadros 3 a 6 são indicadas as análises gerais e o respectivo método analítico utilizado.

3.2. Análises Específicas

Para além da análise sumária, efectuaram-se ainda análises específicas, tendo sido feitas duas repetições para ambas as modalidades. Podemos verificar no Quadro 7, as análises efectuadas e o respectivo método analítico empregue.

Quadro 3 – Métodos usados na determinação da estabilidade físico-química.

Determinações analíticas efectuadas	Métodos utilizados
Turvação	Nefelometria (OIV, 2009)
Prova do ar	A amostra é colocada num copo, ao ar aguardando-se um mínimo de 12 horas (Curvelo-Garcia, 1988)
Estabilidade tartárica (KHT)	Arrefecimento do vinho a 0°C e determinação da condutividade antes e após a adição de KHT. (Boulton, 1980; Curvelo-Garcia, 1988)

Quadro 4 – Métodos utilizados na determinação da análise sumária.

Determinações analíticas efectuadas	Métodos Utilizados
pH	Método Potenciométrico (OIV, 1990)
SO ₂ Livre, Combinado e Total (mg/L)	Método Paul (Curvelo-Garcia, 1988)
Acidez Volátil (g/L ác. Acét.)	Destilação por arrastamento de vapor seguida de titulação (NP-2140)
Acidez Total (g/L ác. Tart.)	Titulação acidimétrica (NP-2139)
Acidez Fixa (g/L ác. Tart.)	Diferença entre a acidez total e acidez volátil (NP-2141)
Açúcares Redutores (g/L)	Método único (NP-2223)
Teor Alcoólico (% vol.) adquirido a 20 °C	Ebuliometria (Curvelo-Garcia, 1988)
Massa Volúmica a 20 °C	Areómetria (NP-2142)
Extracto Seco Total (g/L)	Densimetria (NP-2222)
FML	Cromatografia em papel (Ribéreau-Gayon, 1954; Michod, 1959; Curvelo-Garcia, 1988)

Quadro 5 – Métodos usados na determinação da composição mineral.

Determinações analíticas efectuadas	Métodos utilizados
Cloretos	Titulação potenciométrica dos iões Cl ⁻ da amostra com solução de nitrato de prata, em meio ácido, após a determinação prévia do potencial do ponto equivalente de uma solução-padrão de cloretos (NP-2226)
Catiões: Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu	Método espectrofotométrico de absorção atómica (OIV, 2009)
Cinzas	Método gravimétrico (NP-2221)
Alcalinidade das Cinzas	Incineração e titulação (NP-2279)
Sulfatos	Precipitação pelo cloreto de bário, secagem, calcinação e pesagem (NP-2227)

Quadro 6 – Métodos usados na determinação da composição azotada.

Determinações analíticas efectuadas	Métodos utilizados
Azoto Total	Método de Kjeldahl (OIV, 1990)
Teor em Proteínas	Método de Bradford (modificado por Read e Northcote 1981)

Quadro 7 – Métodos usados na determinação da composição fenólica e cor.

Determinações analíticas efectuadas	Métodos utilizados
Fenóis Totais	Espectrofotometria por medição da absorção em UV 280 nm (Somers & Evans, 1977)
Fenóis não Flavonóides	Determinação por medição a 280nm antes e após precipitação dos flavonóides pela acção do formaldeído (Kramling & Singleton, 1969; Singleton <i>et al.</i> , 1971)
Fenóis Flavonóides	Diferença entre o teor em fenóis totais e em fenóis não flavonóides (Somers & Evans, 1977)
Antocianas totais	Descoloração pelo bissulfito de sódio. (Somers, 1971; Somers & Evans, 1977)
Antocianas Coradas	Medição da variação da absorvância lida a 520 nm, decorrente da reacção de descoloração das antocianas pelo ião bissulfito ao pH do vinho (Somers & Evans, 1977)
Grau de Ionização das Antocianas	Razão entre Antocianas Totais e Antocianas Coradas (Somers & Evans, 1977)
Pigmentos poliméricos	Absorvância lida a 520 nm na presença do bissulfito (Somers, 1971)
Pigmentos totais	Absorvância a 520 nm após acidificação do vinho com HCl (Somers & Evans, 1977)

Índice de Polimerização dos Pigmentos	Razão entre Pigmentos Poliméricos e Pigmentos Totais (Somers & Evans, 1977)
Características cromáticas	<u>Intensidade</u> = soma das absorvâncias a 420 nm; 520 nm e 620 nm, referentes a 1 cm de percurso óptico. (OIV, 1990) <u>Tonalidade</u> = quociente entre a absorvância a 420 nm e a absorvância a 520 nm (Sudraud, 1958)
Cor devida à Copigmentação	Diferença entre a A_{520nm} do vinho livre das antocianinas combinadas com o SO_2 e a A_{520nm} dos complexos antocianinas – copigmento. (Boulton, 2001; Gutiérrez, 2003; Serra, 2004)
Proantocianidinas	Determinação de 3 fracções tânicas (monomérica, oligomérica e polimérica) por eluição em cartuchos C18 Sep Pak, com diferentes solventes e utilizando a reacção com a vanilina medida colorimetricamente a 500 nm (Sun <i>et al.</i> , 1998)
Poder Tanante	Preparação da solução 1ml de vinho + Diluição alcoólica 12% V/V de Ácido Tartárico 5gr/l a pH 3,2 e determinação através de nefelometria por turbidímetro HACH, depois de adicionada de ASB 0,8 g/l e agitado no vortex, aguardando ao abrigo da luz à temperatura ambiente durante 45 minutos. NTU/ml (d-d0) / 0,08 (De Freitas e Mateus, 2001)

4. Análise sensorial

Na realização da análise sensorial dos dois vinhos do ensaio foi utilizado um painel de 12 provadores treinados.

Realizou-se uma prova dos dois vinhos do ensaio, tendo sido usada uma ficha de prova especificamente desenhada para este estudo (Anexo 1).

A caracterização do produto foi feita com recurso a uma ficha de prova, avaliando os seguintes atributos: Cor (Intensidade), Aroma (Intensidade, Frutado, Floral, Equilíbrio, Elegância) e Gosto (Intensidade, Corpo, Adstringência, Acidez, Amargor, Persistência) e ainda uma Apreciação Global do produto. Para caracterizar cada atributo foram usadas uma escala de 1 a 6 nos atributos e de 1 a 20 na Apreciação Global.

5. Análise microbiológica

A análise microbiológica nos vinhos das duas modalidades, tendo em conta a avaliação da sua estabilidade, foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Botânica e Engenharia Biológica, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Foi efectuada a quantificação de microrganismos totais nas amostras Testemunha e Pasteurizada.

A análise foi feita por contagem de colónias em meio de cultura GYP (composto por extracto de leveduras 10 g/L, peptona 10 g/L, D-glucose 20 g/L e ágar 20 g/L) a 4 °C, a pH 6,0, em placas, após filtração do vinho por membrana de 0,22 µm de poro.

6. Análise estatística

Para o tratamento dos dados referentes à análise sensorial, foi utilizado o recurso à análise estatística e ao programa STATGRAPHICS, recorrendo-se a uma análise de variância, ANOVA one-way.

Este tipo de análise permite construir vários testes para comparar os valores de cada atributo entre os dois vinhos usados no ensaio, Testemunha e Pasteurizado. O F-test usado na análise ANOVA testa se existem diferenças significativas entre os vários valores, que, caso existam se podem ver facilmente usando o Multiple Range Test, que agrupa os diferentes valores por vários grupos.

XI. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Parâmetros físico químicos

No Quadro 8 podemos observar os valores da análise sumária dos dois ensaios realizados.

Quadro 8 – Análise Sumária dos vinhos usados no ensaio.

Análises	Testemunha	Pasteurizado
pH	3,64	3,64
SO₂ livre (mg/L)	29	32
SO₂ combinado (mg/L)	51	54
SO₂ total (mg/L)	80	86
Acidez volátil (g/L ác. Acét.)	0,52	0,47
Acidez total (g/L ác. Tart.)	5,25	5,23
Acidez fixa (g/L ác. Tart.)	4,61	4,64
Açúcares redutores (g/L)	9,2	9,3
Teor alcoólico (% vol.)	13,4	13,2
Massa volúmica (g/cm³) a 20°C	0,9947	0,9950
Extracto seco (g/L)	35,2	37,0
Prova do ar	-	-
FML	-	-

1.1. Análise sumária

1.1.1. Acidez volátil

Na Figura 6 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

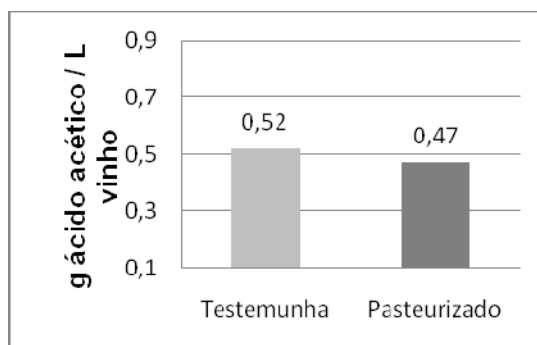


Fig.6 – Valores de acidez volátil obtidos nos dois vinhos.

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009) a repetibilidade é de 0,04 g/L. O valor de acidez volátil apresenta-se idêntico nos dois vinhos. Apesar de, na análise microbiológica se terem encontrado certos microrganismos (leveduras) no vinho Testemunha, não parece existir alguma influência da sua actividade.

Do ponto de vista organoléptico, uma vez que os valores são baixos, não nos parece ter havido formação de quantidades de acetato de etilo e ácido acético suficientes para que sejam detectados à prova.

1.1.2. pH

O pH constitui um dos mais importantes parâmetros de qualidade de um vinho, influenciando todas as reacções que neste ocorrem, tanto físico-químicas como microbiológicas. Os resultados obtidos encontram-se na figura seguinte:

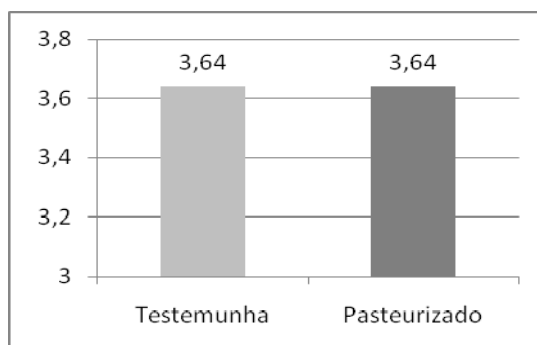


Fig.7 – Valores de pH no vinho Testemunha e Pasteurizado.

Tendo-se registado exactamente o mesmo valor de pH nas duas modalidades em comparação, conclui-se que a Pasteurização não teve efeitos sobre o pH do vinho em análise, estando de acordo com os resultados obtidos por Garde-Cerdán *et al.* (2007). Os valores obtidos encontram-se dentro dos parâmetros considerados bons para um vinho tinto de qualidade.

1.1.3. Dióxido de enxofre (SO₂)

Na Figura 8 apresentam-se os valores obtidos:

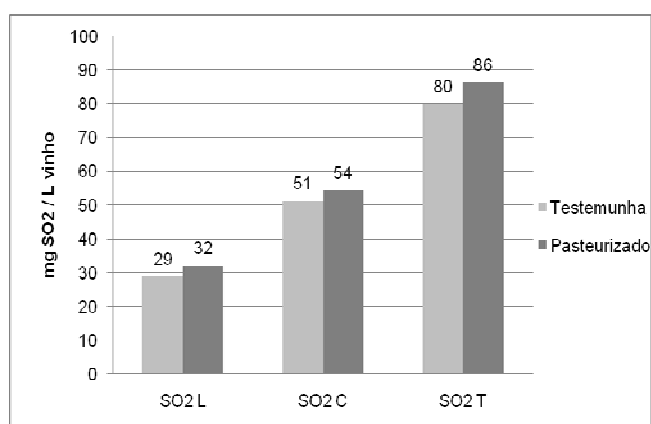


Fig.8 – Valores de dióxido de enxofre (livre, combinado e total), determinado pelo método de Paul, segundo OIV (1990).

Verifica-se um valor ligeiramente superior do dióxido de enxofre livre no vinho Pasteurizado relativamente à Testemunha, de aproximadamente 3 mg/L. Quanto ao sulfuroso total e combinado, os valores são idênticos pois apresentam-se dentro do erro do método segundo OIV (2009) de 6mg/L. Assim apenas podemos afirmar que poderá existir uma ligeira influência da acção do calor no dióxido de enxofre livre, sendo que poderá trazer mais-valias na protecção do vinho contra ataques microbiológicos, para além da acção já fornecida pelo tratamento térmico, estando de acordo com os dados obtidos por Brugirard *et* Rochard (1991) & Jackson *et al.* (2008).

1.1.4. Teor alcoólico

Na Figura 9 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

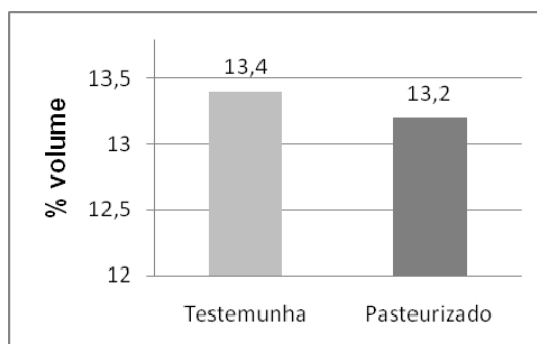


Fig.9 – Teor alcoólico registrado.

Tendo em conta o erro do método segundo OIV (2009), a repetibilidade é de 0,10%. O valor do teor alcoólico obtido foi idêntico no vinho Testemunha relativamente ao vinho Pasteurizado. Apesar dos valores obtidos, poderá haver alguma influência do tratamento térmico na volatilização do álcool, como verificado por Brugirard *et* Rochard (1991), sendo porém difícil tal situação pois o tratamento só atinge a temperatura de volatilização do álcool durante poucos segundos.

1.1.5. Massa volúmica

Na Figura 10 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

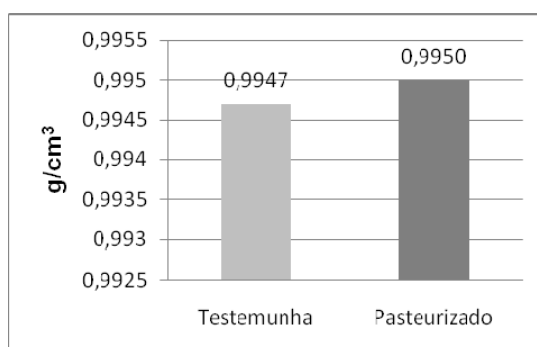


Fig.10 – Valores de massa volúmica obtidos nos dois vinhos (Testemunha e Pasteurizado).

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009) de 0,0001 g/cm³, os valores de massa volúmica obtidos revelam que no vinho Pasteurizado se regista um valor ligeiramente superior, de aproximadamente 0,0001 g/cm³.

Poderá dever-se a um possível efeito de concentração provocado pelo tratamento a alta temperatura e volatilização de certos constituintes de baixo peso molecular, sendo a diferença bastante pequena.

1.1.6. Extracto seco

Na Figura 11 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

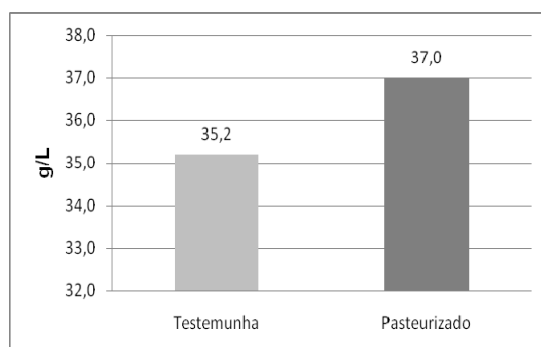


Fig.11 – Valores de extracto seco obtidos.

O valor de extracto seco obtido no vinho Pasteurizada é superior ao registado no vinho Testemunha. Como este parâmetro nos indica todas as substâncias não volatilizáveis presentes num vinho, este aumento de valor poderá apenas ser explicado pela ocorrência de uma concentração pelo tratamento térmico. O extracto seco é também um parâmetro indicador de qualidade de um vinho, apresentando por isso a Pasteurização, uma mais-valia a este nível. Ambos os valores estão acima do limite mínimo legal, revelando que são vinhos genuínos e de qualidade.

1.1.7. FML

Na pesquisa da fermentação maloláctica verificou-se que esta se realizou em ambos os casos, segundo resultado em cromatografia de papel.

Existe a mais-valia do uso da Pasteurização caso não fosse desejado que se desse a fermentação maloláctica, podendo ser utilizada como ferramenta para estabilizar microbiologicamente o vinho, não tendo problemas com refermentações no vinho depois de engarrafado.

1.1.8. Acidez total / Acidez fixa

Na Figura 12 podemos observar o resultado obtido na análise destes parâmetros.

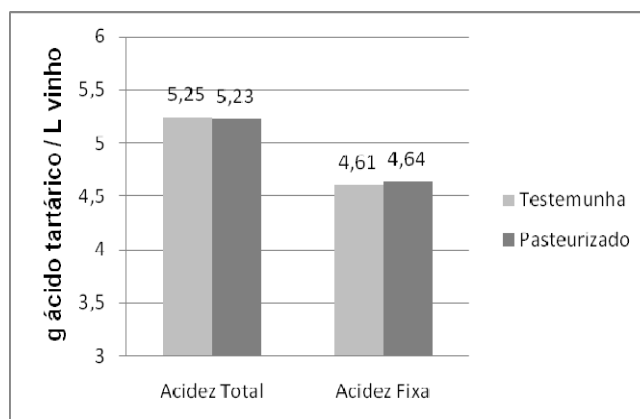


Fig.12 – Valores de acidez total e acidez fixa obtidos.

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009), a repetibilidade é de 0,07 g/L. Podemos observar que os valores de acidez total são iguais nos dois vinhos. O valor de acidez fixa é também o mesmo nos dois vinhos, pois os valores de acidez volátil e de acidez total são também idênticos. Podemos por isso constatar que o tratamento térmico tem pouca influência sobre a acidez do vinho, estando de acordo com o obtido por Garde-Cerdán *et al.* (2007).

1.1.9. Açúcares redutores

Na Figura 13 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

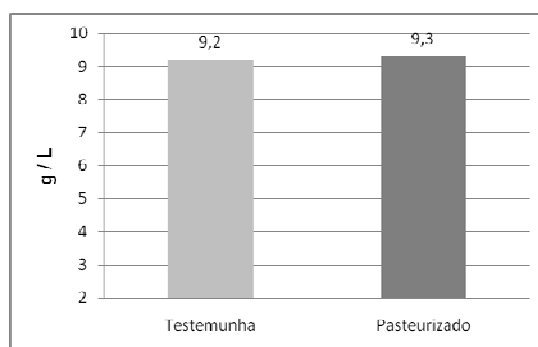


Fig.13 – Valores de açúcares redutores no vinho Testemunha e Pasteurizado.

Como já foi referenciado, o vinho usado no ensaio tinha um valor de açúcar ligeiramente elevado, devido a razões de mercado, que solicitava um produto deste género.

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009), de 0,138 g/L, o valor obtido é igual para os dois vinhos estando de acordo com os resultados obtidos por Garde-Cerdán *et al.* (2007), contrariando porém o proposto por Brugirard *et* Rochard (1991) que referem a possível influência dos tratamentos térmicos sobre os açúcares.

Não existem problemas quanto a possíveis ataques microbianos, pois o vinho é Pasteurizado mesmo devido à existência de açúcares em concentrações um pouco acima do considerado normal para um vinho de mesa. A pasteurização constitui uma mais-valia pois, não havendo alteração, leva à estabilização do vinho, deixando de haver preocupações com refermentações em garrafa.

1.2. Composição azotada

1.2.1. Azoto total

O teor de compostos azotados totais pode ser um indicador indirecto do teor de proteínas no vinho. Pode também representar até 15 a 20% do extracto seco dos vinhos. (Curvelo-Garcia 1988). Na Figura 14 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

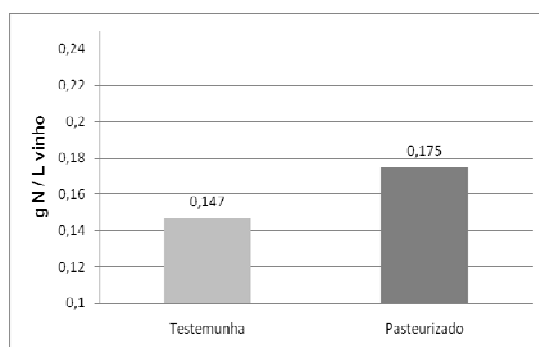


Fig.14 – Valores de azoto total.

O valor obtido no vinho Pasteurizado é ligeiramente superior ao verificado no vinho Testemunha, contrariamente aos resultados obtidos por Garde-Cerdán *et al.* (2007).

Pode dever-se ao efeito de concentração do vinho pelo calor, estando ligado ao valor de extracto seco já avaliado anteriormente, ou ainda à acção do calor numa possível desnaturação das proteínas do vinho, como referido por Ribéreau-Gayon (1998) e Pocock *et al.* (2003).

1.2.2. Teor em proteína

Segundo Hsu *et al.* (1987), o teor em proteínas pode dar informação relacionada com a possibilidade de formação de cassetes e, portanto turvação dos vinhos. Na Figura 15 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

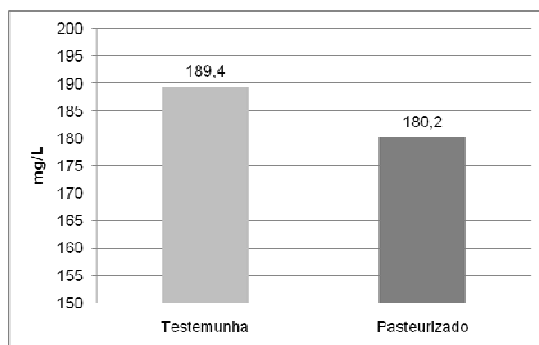


Fig.15 – Valores de teor em proteína.

O valor obtido no vinho Pasteurizado é inferior ao que se verifica no vinho Testemunha, o que nos leva a supor que o tratamento pelo calor pode promover uma precipitação das proteínas, levando a que se depositem e apareçam depois em menor quantidade no vinho engarrafado, estando de acordo com o proposto por Ribéreau-Gayon (1998); Pocock *et al.* (2003). Porém não são valores indicativos de uma possível instabilidade proteica (Curvelo-Garcia 1988).

1.3. Composição mineral

1.3.1. Cinzas

Na Figura 16 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

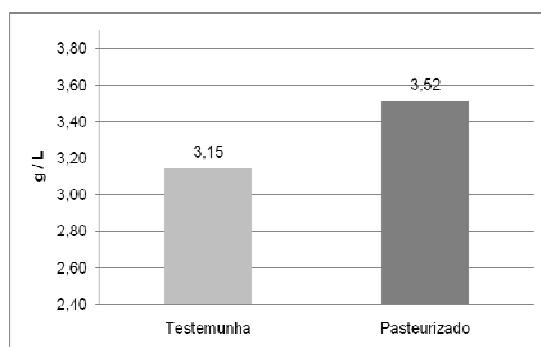


Fig.16 – Valores de cinzas obtidos nos vinhos Testemunha e Pasteurizado.

O valor obtido no vinho Pasteurizado foi superior ao do vinho Testemunha, constatando que existe alguma influência deste tipo de tratamento no teor em cinzas. Este efeito pode dever-se a uma concentração do vinho provocada pelo tratamento térmico, contribuindo para um aumento do teor em substâncias minerais do vinho. Os valores obtidos são superiores ao limite mínimo exigido, constatando que se trata de um vinho de qualidade, encontrando-se ligeiramente superiores aos valores normais que variam entre 1,5 e 3g/L (Ribéreau-Gayon, 2001).

1.3.2. Alcalinidade das cinzas

A determinação da alcalinidade das cinzas permite-nos conhecer a quantidade de ácidos orgânicos presentes no vinho na forma de sais (Curvelo-Garcia, 1988). Na Figura 17 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

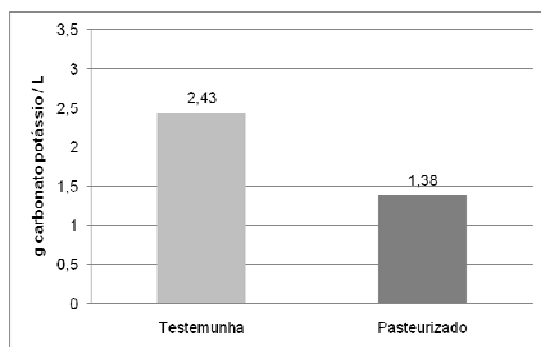


Fig.17 – Valores de alcalinidade das cinzas.

O valor obtido no vinho Pasteurizado é bastante inferior ao verificado no vinho Testemunha. Este resultado pode indicar a existência de uma maior quantidade de sais orgânicos presente no vinho Testemunha, podendo concluir que o tratamento pelo calor poderá ter influência ou mesmo destruir alguma parte orgânica dos vinhos.

1.3.3. Sulfatos

Na Figura 18 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

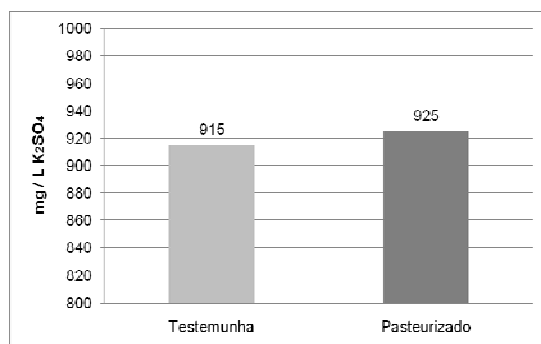


Fig.18 – Valores de sulfatos obtidos.

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009), a repetibilidade é de 27 mg/L. Os valores obtidos nos dois vinhos, Pasteurizado e Testemunha são idênticos. Assim, podemos afirmar que o tratamento do vinho por Pasteurização não deverá ter influência no teor em sulfatos.

1.3.4. Cloretos

Na Figura 19 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

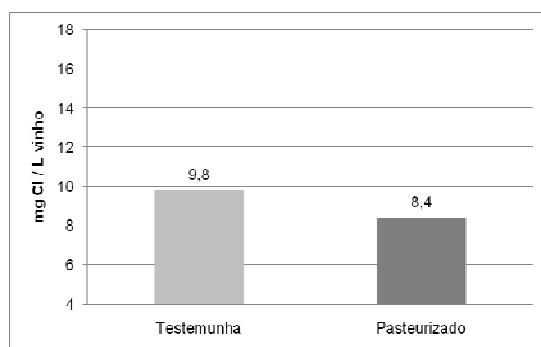


Fig.19 – Teor em cloretos registado.

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2007), a repetibilidade é de 1,2 mg/L. Os valores obtidos não apresentam diferenças assinaláveis nos dois vinhos Pasteurizado e Testemunha, estando a diferença observada dentro do erro do método. O teor em cloretos destes vinhos apresenta um valor baixo.

1.3.5. Catiões totais

Os catiões representam um importante papel na vinificação sobretudo, pelo risco de turvação, pela formação de bitartarato de potássio, tartarato de cálcio, de ferro ou de cobre (Ribéreau-Gayon, 2001). No Quadro 11 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

Quadro 9 – Valores de catiões totais obtidos.

Catiões Totais	Testemunha	Pasteurizado
Ca (mg/L)	64	68
Mg (mg/L)	94	93
K (mg/L)	1225	1248
Na (mg/L)	27	41
Fe (mg/L)	8,6	9,0
Cu (mg/L)	3,20	3,20

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009), os valores são: Ca: 4mg/L; Mg: 3mg/L; K: 35mg/L; Na: $1+0,024[\text{Na}]$.

O valor dos teores em Ca, Mg, K obtido apresenta-se igual nos dois vinhos, sendo a diferença observada, um erro do método de análise.

O teor em Na obtido é superior no vinho Pasteurizado.

O teor em Cu apresenta-se idêntico nos dois vinhos praticados.

O teor em Fe é ligeiramente superior no vinho Pasteurizado.

A ligeira diferença no teor em Fe é bastante pequena, podendo estar ligada a erros do operador. O teor em Na registado já apresenta uma diferença considerável.

1.4. Estabilidade físico-química

A estabilidade do vinho é um factor essencial para que não ocorram turvações após o engarrafamento.

Por esta razão é indispensável a realização de testes de estabilidade, cuja finalidade é assegurar a clarificação do vinho durante o máximo período de tempo e evitar precipitações.

1.4.1. Estabilidade tartárica

A estabilidade tartárica é algo de muito importante num vinho, principalmente em vinhos brancos e rosés. Pode existir o problema do aparecimento de sais insolubilizados em ambientes frios, sendo algo depreciativo ao olho do consumidor. É por isso importante o conhecimento deste parâmetro para uma maior segurança do produtor.

Na Figura 20 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

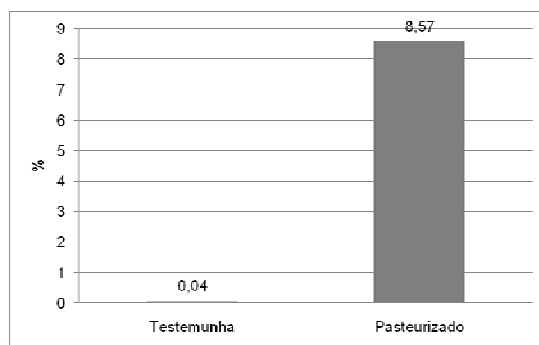


Fig.20 – Ensaio de estabilidade tartárica.

No ensaio de estabilidade tartárica, o valor obtido no vinho Testemunha é inferior a 5%, considerando-se que o vinho está estável, enquanto no vinho Pasteurizado, o valor é superior a 5%, tendo influência na sua estabilidade tartárica.

Como o vinho não sofreu nenhum tipo de estabilização, apenas a que ocorreu naturalmente pelo frio do Inverno, podemos afirmar que mesmo assim no vinho Pasteurizado, existe uma possibilidade de haver instabilidade. Porém, já no vinho Testemunha, devido à existência de ácido metatartárico, apresenta-se estável, constatando que existe uma influência do tratamento térmico na estabilidade tartárica. Assim, apesar da acção do calor poder ter influência na solubilização dos microcristais, segundo dados obtidos por Ribéreau-Gayon *et al.* (1976); Brugirard *et* Guittard (1988); Brugirard *et* Rochard (1991); Flanzy *et al.* (1998), na presença de ácido metatartárico, a acção de um tratamento a elevadas temperaturas poderá diminuir o efeito de protecção do ácido metatartárico, havendo instabilidade, também verificado por Brugirard *et* Rochard (1991).

1.4.2. Prova do ar

O resultado obtido foi **negativo** em ambos os vinhos, Pasteurizado e Testemunha, o que permite concluir, à partida, que o vinho não tem tendência para turvar, isto é, para formar casses, férica ou oxidásica.

1.4.3. Turvação

Na Figura 21 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

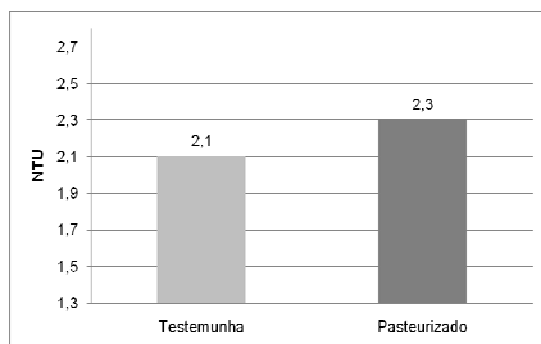


Fig.21 – Ensaio de turvação por nefelometria.

Tendo em conta o erro do método, segundo OIV (2009), de 0,1 NTU, os valores obtidos são praticamente idênticos em ambos os vinhos, não devendo haver influência dos tratamentos térmicos na turvação. A ação do calor poderá porém ter um efeito de desnaturação das proteínas, levando assim a que, por outros processos, possa haver uma maior turvação Lamikanra *et* Inyang (1988). Porém, apesar de se verificar uma ligeira diminuição do teor em proteínas no vinho pasteurizado, não se verifica um aumento da sua turvação.

1.5. Composição fenólica e cor

A cor e os compostos fenólicos estão intimamente ligados no que respeita à estabilidade da cor de um vinho tinto e às suas características sensoriais. A cor é um parâmetro bastante importante, merecendo uma análise mais profunda. A cor e os compostos fenólicos estão normalmente presentes quando se fala em pasteurização ou tratamentos térmicos em geral, pois pode haver algum tipo de influência destes tratamentos na sua composição.

1.5.1. Intensidade, tonalidade e cor devida à copigmentação.

No Quadro 10 podemos observar o resultado obtido na análise da intensidade, tonalidade e cor devida à copigmentação.

Quadro 10 – Valores da intensidade, tonalidade e copigmentação dos dois vinhos.

Ensaio	Testemunha	Pasteurizado
Intensidade da Cor (u.a.)	10,08	9,23
Tonalidade (u.a.)	0,760	0,770
Cor devida à copigmentação (%)	58	56

Como podemos analisar no Quadro 10, o vinho Pasteurizado apresenta um menor valor da intensidade da cor em relação ao vinho Testemunha, sendo que a tonalidade apresenta um valor ligeiramente superior.

Assim, a acção do calor poderá influenciar a Intensidade da Cor, estando de acordo com os resultados obtidos por Robinson *et al.* (1966); Van Buren *et al.* (1968) & Ribéreau-Gayon *et al.* 1976). Pode ainda ser explicado pela sua influência no teor em dióxido de enxofre livre apesar de registar uma diferença muito pequena.

A tonalidade revela que o vinho Pasteurizado apresenta uma maior importância da absorvância 420 nm, que revela a existência de cor mais alaranjada do vinho estando de acordo com vários autores (Rahman 1999; Garde-Cerdán *et al.* 2007; Li *et al.* 2007). É porém um valor pequeno, não detectado na análise sensorial.

O valor da cor devida à copigmentação é ligeiramente inferior no vinho Pasteurizado, podendo haver algum tipo de influência da temperatura nas ligações existentes entre as antocianinas e certos compostos como os flavonóis, flavonas ou outros compostos fenólicos (Boulton, 2001).

1.5.2. Pigmentos poliméricos, totais e índice de polimerização.

No Quadro 11 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

Quadro 11 – Valores de pigmentos poliméricos, totais e índice de polimerização.

Ensaio	Testemunha	Pasteurizado
Pigmentos Poliméricos (u.a.)	2,51	2,57
Pigmentos Totais (u.a.)	20,35	20,40
Índice de Polimerização dos Pigmentos (%)	12,33	12,59

Verifica-se um valor aproximado com um ligeiro aumento dos pigmentos poliméricos, totais e também do seu índice de polimerização no vinho Pasteurizado relativamente ao vinho Testemunha. Porém os valores são bastante aproximados, podendo estar relacionados com erros do operador.

1.5.3. Antocianinas totais, coradas e seu grau de ionização.

No Quadro 12 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

Quadro 12 – Valores de antocianinas totais, coradas e seu grau de ionização.

Ensaio	Testemunha	Pasteurizado
Antocianinas Totais (mg/L)	357	357
Antocianinas Coradas (mg/L)	48	44
Grau de Ionização das Antocianinas (%)	14	12

O valor de antocianinas totais é o mesmo nos dois vinhos, Testemunha e Pasteurizado. As antocianinas coradas apresentam uma pequena diferença entre os dois vinhos, sendo ligeiramente inferior no vinho Pasteurizado. Quanto à ionização das antocianinas, o vinho Pasteurizado apresenta um valor ligeiramente inferior ao registado no vinho Testemunha.

Assim, poderá haver algum tipo de influência da acção da temperatura na cor, ainda que muito ligeira, resultado também constatado na determinação da intensidade da cor e cor devida à copigmentação.

1.5.4. Fenóis totais, não flavonóides e flavonóides.

No Quadro 13 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

Quadro 13 – Valores de fenóis totais, fenóis não flavonóides, fenóis flavonóides e índice de polifenóis totais.

Ensaio	Testemunha	Pasteurizado
Fenóis Totais (mg/L ác. Gálico)	2072	2060
Fenóis Não Flavonóides (mg/L ác. Gálico)	116	118
Fenóis Flavonóides (mg/L ác. Gálico)	1956	1942
Índice de Polifenóis Totais (u.a.)	68	67

Os teores em fenóis totais e fenóis flavonóides e o índice de polifenóis totais apresentam valores ligeiramente superiores no vinho Testemunha, sendo que os fenóis não flavonóides se apresentam ligeiramente inferiores em relação ao Pasteurizado. Porém, os valores observados são muito semelhantes, não havendo uma diferença considerável entre os dois vinhos, podendo ser devida a erros operacionais.

1.5.5. Taninos em função do grau de polimerização (Proantocianidinas)

Na Figura 22 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

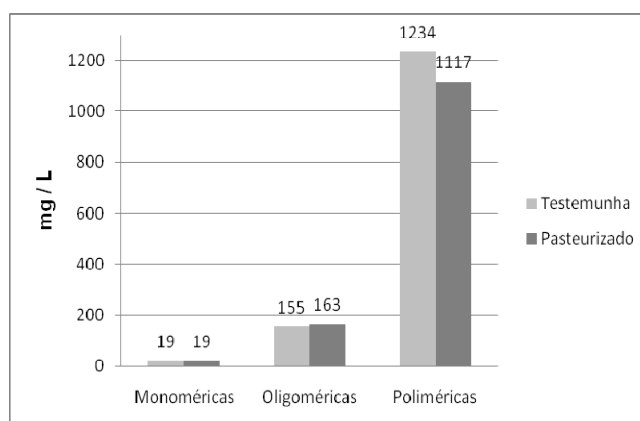


Fig.22 – Valor de Proantocianidinas (monoméricas, oligoméricas e poliméricas).

O valor de proantocianidinas registado na fracção monomérica foi o mesmo em ambos os vinhos. Quanto à fracção oligomérica o valor registado foi ligeiramente superior no vinho Pasteurizado, sendo que na fracção polimérica se observa uma ligeira diminuição no valor do vinho Pasteurizado.

Podemos tentar explicar as pequenas alterações ocorridas pela acção do calor, promovendo uma despolimerização das proantocianidinas poliméricas em compostos mais pequenos, resultado também verificado por Fuleki *et al.* (2003).

Podemos relacionar o resultado verificado com o teor em fenóis obtido. O teor em fenóis não flavonóides foi também ligeiramente mais elevado no vinho Pasteurizado, enquanto o teor em fenóis flavonóides foi ligeiramente inferior para o mesmo vinho, estando assim relacionadas as proantocianidinas e os fenóis com uma coerência de resultados.

Quadro 14 – Valor de Proantocianidinas registada nos dois ensaios realizados.

Proantocianidinas	Testemunha	Pasteurizado
Monoméricas	19	19
Oligoméricas	155	163
Poliméricas	1234	1117
Taninos Totais	1408	1299

1.5.6. Poder tanante

O poder tanante corresponde à expressão de tanicidade de um vinho, que vai influenciar no carácter mais adstringente dos vinhos à prova.

No Quadro 15 podemos observar o resultado obtido na análise deste parâmetro.

Quadro 15 – Valor de poder tanante obtido nas duas modalidades em estudo.

Ensaio	Testemunha	Pasteurizado
Poder Tanante NTU/mL	302	287

O valor de poder tanante observado é superior no vinho Testemunha, podendo por isso haver influência do tratamento térmico neste parâmetro. Será por isso possível afirmar que o vinho Testemunha, poderá conter uma maior adstringência, factor que não foi verificado a nível sensorial. Porém, a análise de taninos em função do grau de polimerização apresenta resultados de acordo com os obtidos na análise do poder tanante. Há um maior valor de taninos poliméricos que podem levar a uma maior adstringência, tendo ainda um menor valor em taninos oligoméricos responsáveis por uma menor adstringência. Apesar dos valores obtidos, não é possível diferenciar os dois vinhos.

2. Análise sensorial e tratamento estatístico dos resultados

No Quadro 16 apresenta-se a média e o respectivo desvio padrão dos atributos analisados, após prova por painel de provadores treinado das duas modalidades em estudo. No cálculo destas médias e desvio padrão foram excluídos os extremos mínimos e máximos de cada parâmetro.

Quadro 16 – Valores de médias e desvio padrão da análise sensorial das duas modalidades em estudo, Testemunha e Pasteurizado.

Modalidades		Testemunha	Pasteurizado
Cor	Intensidade	4,5 ±0,5	4,3 ±0,5
Aroma	Intensidade	4,1 ±0,7	4,3 ±0,8
	Frutado	3,7 ±0,7	3,9 ±0,7
	Floral	2,9 ±1,0	2,8 ±0,6
	Vegetal	2,5 ±0,4	2,0 ±0,6
	Equilíbrio	3,9 ±0,6	3,6 ±0,4
	Elegância	3,9 ±0,7	3,9 ±0,7
Gosto	Intensidade	4,1 ±0,6	4,4 ±0,5
	Corpo	3,8 ±0,6	3,7 ±0,7
	Adstringência	3,7 ±0,5	3,7 ±0,7
	Acidez	3,6 ±0,7	3,7 ±0,7
	Amargor	2,4 ±0,9	2,4 ±1,1
	Persistência	4,1 ±0,7	4,0 ±0,9
Apreciação Global		14,5 ±1,0	14,2 ±1,0

Como já foi referido, a escala usada foi de 1 a 6. Na Apreciação Global usou-se uma escala de 0 a 20, sendo 20 considerado a melhor classificação.

Ao observar o Quadro 16, parece-nos existirem apenas muito ligeiras diferenças entre os vários atributos dos dois vinhos, Testemunha e Pasteurizado, embora se tivesse pensado à partida que alguma influência poderia haver deste tipo de tratamento térmico sobre o vinho.

Porém, após ser feita a análise estatística, usando o método de análise de variância ANOVA (Anexo 4), podemos verificar que tais diferenças não são assim tão relevantes, não se apresentando diferenças significativas para nenhum dos atributos estudados (Quadro 17).

Quadro 17 – Resultados do tratamento estatístico dos vários atributos analisados na análise sensorial dos dois vinhos em estudo, Testemunha e Pasteurizado.

Atributos		ANOVA	
		F-test	Nível de significância
Cor	Intensidade	0,78	0,3880
Aroma	Intensidade	0,33	0,5743
	Frutado	0,40	0,5350
	Floral	0,07	0,7915
	Vegetal	2,65	0,1211
	Equilíbrio	1,11	0,3061
	Elegância	0,00	1,0000
Gosto	Intensidade	1,53	0,2323
	Corpo	0,09	0,7642
	Adstringência	0,00	1,0000
	Acidez	0,09	0,7730
	Amargor	0,00	1,0000
	Persistência	0,07	0,7947
Apreciação Global		0,40	0,5335

NOTA: Os valores que apresentam um nível de significância do F-Test superior ou igual a 0,05 correspondem a médias de atributos que não diferem significativamente entre si, com um nível de confiança de 95%.

Após o tratamento estatístico dos dados dos vários atributos, podemos constatar que, para um nível de confiança de 95%, não parecem existir diferenças significativas entre os vários atributos, dos dois vinhos em análise. Apesar disso, podemos observar que o menor nível de significância é o correspondente ao Aroma Vegetal, podendo ser o que mais diferença apresenta quando comparados os dois vinhos.

Tendo em conta uma análise não estatística, podemos verificar que os atributos Intensidade da cor, Aroma Floral, Aroma Vegetal, Equilíbrio de Aroma e Apreciação Global apresentam um valor superior no vinho Testemunha. A Intensidade de Aroma, Aroma Frutado, Intensidade do Gosto, Adstringência, Acidez, Amargor e Persistência apresentam um valor superior no vinho Pasteurizado. Quanto à Elegância de Aroma e Corpo, apresentam valores idênticos.

3. Resultados teste à estabilidade microbiológica

Os resultados obtidos estão apresentados no Quadro 18.

Quadro 18 – Contagem de microrganismos totais em vinho.

Amostra	Tipo de microrganismos	n.º colónias (UFC/10mL)
Testemunha	Bactérias esporuladas em forma de bastonete	18
	Leveduras	134
Pasteurizado	Bactérias esporuladas em forma de bastonete	54
	Leveduras	incontável

Os resultados mostram que existe uma ligeira diferença entre o vinho da modalidade **Testemunha** e o **Pasteurizado**. A modalidade **Testemunha**, que apenas foi submetida a filtração esterilizante, apresenta algumas colónias brancas de leveduras, podendo ser explicadas por possíveis contaminações na linha de engarrafamento depois da filtração ter ocorrido (Hood et Rankine 1977; Wurdig 1978). A existência deste tipo de microrganismos pode, caso existam em maior concentração provocar problemas de refermentação, nomeadamente actuando sobre o açúcar residual do vinho. Foram também observadas algumas colónias de bactérias esporuladas, que, em princípio não apresentam qualquer tipo de problema.

Na modalidade **Pasteurizada**, apenas foram observadas algumas bactérias em forma de bastonetes esporulados, o que é facilmente explicado pela sua resistência à pasteurização, que, como dissemos anteriormente a sua presença não representa qualquer tipo de problema para a estabilidade do vinho.

A presença de leveduras apenas na modalidade Testemunha leva-nos a pensar que possa existir uma contaminação ao nível da tubagem e equipamento após a filtração, situação que deverá ser melhor examinada pela empresa.

A pasteurização foi neste caso vantajosa em relação à não pasteurização pois eliminou todas as colónias de leveduras que, caso se multiplicassem no vinho, poderiam afectar a sua estabilidade.

4. Perspectivas futuras

Apesar de a Pasteurização ser um método muito antigo na prevenção de problemas microbiológicos, muito pouca informação, publicada e acessível, existe acerca deste tipo de tratamento, no caso do sector dos vinhos, sendo difícil a decisão de qual o mais adequado a seguir.

Como em todos os vinhos, é necessário tentar avaliar o que fazer no futuro na tentativa de melhorar as técnicas ou métodos utilizados.

Assim, após avaliação dos resultados obtidos, é necessário ter em conta: o melhoramento dos tipos de tratamento térmico, tentando encontrar a melhor relação tempo/temperatura, sem afectar os parâmetros que sofreram alteração.

Poderemos obter assim um melhor efeito deste tipo de tratamentos nos vinhos, trazendo mais-valias ao produtor e consumidor, contribuindo cada vez mais para uma maior evolução e conhecimento deste tipo de tratamento físico.

A alteração de maior relevância deverá ser a influência do tratamento pelo calor na acção do ácido metatartárico. Será portanto necessário reavaliar o uso deste colóide protector e o melhor momento da sua adição, ou mesmo estudar os efeitos da pasteurização na estabilidade tartárica em mais pormenor.

XII. CONCLUSÃO

Após a realização deste estudo, apresentam-se aqui as principais conclusões que se podem retirar da análise dos resultados obtidos dos vários parâmetros analisados.

Os resultados obtidos nos parâmetros acidez volátil, pH, dióxido de enxofre total, teor alcoólico, acidez fixa, acidez total, açúcares redutores, sulfatos, cloretos, cálcio, magnésio, potássio, cobre, ferro e turvação apresentam valores muito parecidos nos dois vinhos em análise, concluindo que não deverá haver influência do tratamento térmico nestes parâmetros. O ligeiro aumento do dióxido de enxofre livre no vinho Pasteurizado poderá ser devido a efeitos de dissociação do SO₂ combinado pela acção do calor, promovendo uma maior protecção do vinho. As cinzas, massa volúmica e extracto seco podem apresentar um ligeiro aumento no vinho Pasteurizado devido a um possível efeito de concentração verificado pela perda de alguns constituintes voláteis de baixo peso molecular, com baixos pontos de ebulição.

O teor em azoto total apresenta um ligeiro aumento no vinho que foi sujeito ao programa de tratamento térmico e que poderá estar relacionado com a diminuição do teor em proteínas, podendo existir alguma acção da temperatura sobre as proteínas, desnaturando-as. O valor de alcalinidade das cinzas também diminui ligeiramente no vinho Pasteurizado podendo existir uma acção da temperatura sobre a parte orgânica do vinho, como aliás se indicou anteriormente.

O parâmetro onde se obtiveram maiores diferenças foi na estabilidade tartárica, apresentando valores de instabilidade no vinho Pasteurizado. O tratamento térmico poderá ter tido de alguma maneira alguma influência na solubilização dos microcristais, sendo que na presença de ácido metatartárico, a acção das altas temperaturas poderá diminuir o seu efeito de protecção.

Quanto à composição fenólica e à cor dos vinhos, o vinho Pasteurizado apresenta um menor valor da intensidade da cor em relação ao vinho Testemunha, sendo que a tonalidade apresenta um valor ligeiramente superior. No entanto, as diferenças encontradas são muito pequenas.

O valor da cor devido à copigmentação é ligeiramente inferior no vinho Pasteurizado, demonstrando uma possível descombinação dos copigmentos que apresentam ligações químicas fracas, pela acção da temperatura aplicada.

Verifica-se um ligeiro aumento dos pigmentos poliméricos, totais e também do seu índice de polimerização no vinho Pasteurizado relativamente ao vinho Testemunha, sendo porém os valores bastante aproximados, provavelmente porque poderá ter ocorrido algum tipo de reacção de polimerização pela acção do calor, sendo no entanto uma diferença muito pouco relevante.

No que se refere às Antocianinas Totais, não se observou qualquer diferença entre os dois vinhos, Testemunha e Pasteurizado. As Antocianinas Coradas apresentam uma muito pequena diferença entre os dois vinhos, sendo ligeiramente inferior no vinho Pasteurizado. Quanto ao grau de ionização das antocianinas, o vinho Pasteurizado apresenta um valor ligeiramente inferior ao registado no vinho Testemunha.

Assim, poderá haver algum tipo de influência da acção da temperatura na cor, ainda que muito ligeira., podendo ter a ver com fenómenos de oxidação, acelerados pela acção da temperatura, não sendo contudo essa alteração registada aquando da análise sensorial.

O teor em Fenóis totais e Fenóis Flavonóides e o Índice de Polifenóis Totais apresentam valores ligeiramente superiores no vinho Testemunha, sendo que os fenóis não flavonóides se apresentam ligeiramente inferiores em relação ao Pasteurizado. Porém, os valores observados são muito semelhantes, não havendo uma diferença considerável entre os dois vinhos.

O valor de proantocianidinas registado na fracção monomérica foi o mesmo em ambos os vinhos. Quanto à fracção oligomérica o valor registado foi ligeiramente superior no vinho Pasteurizado, sendo que na fracção polimérica se observa uma ligeira diminuição no valor do vinho Pasteurizado. Podemos tentar explicar as pequenas alterações ocorridas pela acção do calor, promovendo uma despolimerização das proantocianidinas poliméricas em compostos mais pequenos. No entanto, esta eventual transformação foi pouco relevante.

O valor de Poder Tanante observado é superior no vinho Testemunha, podendo por isso haver influência do tratamento térmico neste parâmetro.

A análise de taninos em função do grau de polimerização apresenta resultados de acordo com os obtidos na análise do poder tanante. Além disso, o teor em taninos totais também decresce, particularmente a fracção polimérica, podendo ter alguma relação com o decréscimo do teor em proteínas. Apesar de haver um ligeiro decréscimo do valor destes parâmetros no vinho submetido ao tratamento térmico, não ocorrem diferenças sensoriais ao nível da adstringência.

A nível sensorial podemos concluir que não existem grandes diferenças entre os dois vinhos usados neste ensaio.

Na análise geral, o painel de prova não tem preferência por nenhum dos vinhos, constatando que os ambos se tratam de vinhos de qualidade. Ao observar as médias obtidas podemos constatar que existem algumas diferenças muito pequenas, sendo que após tratamento estatístico dos resultados, poder-se-á concluir que não existem diferenças significativas para nenhum dos atributos comparados nos dois vinhos.

Quanto à análise microbiológica, os resultados mostram que existe uma ligeira diferença entre o vinho da modalidade Testemunha e o Pasteurizado. O vinho Testemunha apresentou microrganismos que podem, caso existam em maior número, afectar a qualidade

do vinho, nomeadamente atacando o açúcar residual, sendo que o vinho Pasteurizado não apresenta qualquer tipo de instabilidade microbiológica.

A pasteurização foi neste caso vantajosa em relação à testemunha pois eliminou todas as colónias de leveduras que poderiam, caso se multiplicassem no vinho, afectar a sua estabilidade, não tendo influenciado em muito os seus parâmetros físico-químicos.

Assim, podemos concluir que, na generalidade o tratamento térmico dos vinhos usados neste ensaio, não deverá ter uma grande influência nos parâmetros físico-químicos e sensoriais, e por conseguinte na qualidade dos vinhos.

O principal resultado deverá ser a influência do tratamento pelo calor na acção do ácido metatartárico. Será portanto necessário reavaliar o uso deste colóide protector e o melhor momento da sua adição, ou mesmo estudar os efeitos da pasteurização na estabilidade tartárica com maior pormenor.

XIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ageron, D.; Escudier, J.L.; Abbal, P. ; Moutounet, M. (1995). Prétraitement des raisins par flah détente sous vide poussé. *Revue Française d'œnologie*. **153** : 50-53.

Aguilar-Rosas, S.F.; Ballinas-Casarrubias, M.L.; Nevarez-Moorillon, G.V.; Martin-Belloso, O.; Ortega-Rivas, E. (2007). Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*. **83**: 41-46.

Aldave, L. ; Cabezudo, M.D. ; Caceres, I. ; Gonzalez-Raurich, M.; Salvador, M.D. (1993). The shelf life of young white wines. *Shelf life of foods and beverages*. 923-944.

Aleixandre, J.L. ; Contreras, M.J. ; Alvarez, I. (1996) Influence du traitement de stabilisation microbiologique sur la conservation des vins Malvasia. *Rivista di viticoltura e di enologia*. **4**.

Amerine, M.A. ; Joslyn, M.A. (1970). Table wines: the technology of their production. *University of California Press. Berkeley*.

Auw, J.M.; Blanco, V. ; O'Keefe, S.F. ; Sims, C.A. (1996) Effect of processing on the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin and Noble wines and juices. *Am. J. Enol. Vitic.* **47** : 279-286.

Ball, C.O. (1957). Sterilization in food technology. McGraw Hill, New York.

Berg, H.W. (1963). Stabilization des anthocyanins. Comportement de la couleur dans les vins rouges. *Ann. Technol. Agr.* **12**: 247-257.

Bidan P., Doutsias G., Dubois C. (1977). Les problèmes théoriques et pratiques de la stabilisation des vins par les procédés thermiques. *IIIº Simpósio Internacional de Enologia. Universidade de Bordéus II, 21-25 Junho*.

Boulton, R.; Singleton, V.; Bisson, L.; Kunkee, R. (1996). Principles and Practices of Winemaking. *Springer, California*.

Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine a critical review. *Am. J. Enol. Vitic*, **52**.

Brugirard A.; Guittard A. (1988). La Pasteurisation en Œnologie. *Revue des Œnologues*, **14**: 6-11.

Brugirard, A.; Rochard, J. (1991). Aspects Pratiques des Traitements Thermiques des Vins. Collection Avenir Œnologie, *Bourgogne Publications, France*.

Castino, M. (1981). Prospettive di miglioramento della qualità nella vinificazione in bianco. *Giornata dell'Enotecnico, Vicenza*.

Costa, A.; Barata, A.; Malfeito-Ferreira, M.; Loureiro, V. (2008). Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms. *Food Microbiol.* **25** : 422-427.

Courtoisier, A.J. (1984). Action destructive de la chaleur sur les micro organismes. Calcul pratique d'un traitement thermique et application au vin. *Ind. Aliment. Agric.* **101** : 103-114.

Crettenand, M.J. (1978). Mise en valeur des vendanges altérées (grêle, mildiou, oïdium, pourriture, accidents divers). *Bull. OIV.* **51** : 23-28.

Curvelo-Garcia, A. S. (1988). Controlo de Qualidade dos Vinhos. *Instituto da Vinha e do Vinho. Portugal*.

Dallas, C.; Ricardo-da-Silva, J.M.; Laureano, O. (1995). Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation. *Vitis* **34**: 51-56.

Dawes, H. ; Boyes, S. ; Keene, J. ; Heatherbell, D. (1994). Protein Instability of Wines: Influence of Protein Isoelectric Point. *Am. J. Enol. Vitic.* **45** (3): 319-326.

De Freitas, V., Mateus, N. (2001). *Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins.* *J. Agric. Food. Chem.* **49**: 940-945.

Delfini, C. ; Gaia, P. ; Schellino, R. ; Strano, M.; Pagliara, A.; Ambrò, S. (2002). Fermentability of grape must after inhibition with dimethyl dicarbonate (DMDC). *J. Agric. Food Chem.* **50**: 5605-5611.

Delfini, C., Formica, J.V. (2001). Wine Microbiology, Science and Technology. *Marcel Dekker Editions*.

Delvecchio (1971). Manuale dell'enologo. Ediz. Marenalchi, Casale Monferato.

Devèze, M. (1977). Les problèmes microbiologiques et la conservation des vins blancs doux – théorie et pratique d l'utilisation des traitements thermiques. *Tese de Doutorado. Universidade de Bordéus II*.

Devèze, M. ; Ribéreau-Gayon, P. (1977). Thermorésistance des levures dans le Vin. Application à la stabilisation des vins par la chaleur. *Conn. Vigne Vin*, **11**: 131-163.

Devèze, M. ; Ribéreau-Gayon, P. (1978). Utilisation pratique des traitements thermiques pour la stabilisation microbiologique des vins doux. *Conn. Vigne Vin*, **12**: 91-110.

Dilay, E. ; Vargas, J.V.C. ; Amico, S.C. ; Ordonez, J.C. (2006). Modeling, simulation and optimization of a beer pasteurization tunnel. *Journal of Food Engineering*. **77** : 500-513.

Dubourdieu, D. ; Ribéreau-Gayon, P. (1977). Observations sur les difficultés de clarification des vins de vendanges pourries. *C.R. Acad. Agric.* **23**: 290-296.

Engelman, M.S., Sani, R.L. (1983). Finite element simulation of na in package pasteurization process. *Numerical Heat Transfer* **6**: 41-54.

Ferreira, D.; Steynberg, J.P.; Burger, J.F.W.; Bezuidenhoudt, B.C.B. (1992). Oxidation and rearrangement reactions of condensed tannins. In Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance. *Hemingway, R.W., Laks, P.E., Eds.; Plenum Press: New York*. pp. 349-384.

Fischer, U. ; Strasser, M. ; Gutzler, K. (2000). Impact of fermentation technology on the phenolic and volatile composition of German red wines. *International Journal of Food Science and Technology*, **35**: 81-94.

Fischer, U.; Gutzler, K.; Strasser, M.; Michel, H. (1999). Red wine making by thermovinification versus fermentation on the skins: comparison of phenol and aroma composition. *Proceedings of 24th OIV World Congress of Vines and Wine in Mainz, Germany in July 1999, Section II Oenology. Mainz: Deutsches Weininstitut.* **2** : 64-69

Flanzy, C. et al. (1998). *Oenologie: Fondements Scientifiques et Technologiques. Collection Sciences & Techniques Agroalimentaires.* Tec&Doc Lavoisier, Paris.

Fuleki, T.; Ricardo da Silva, J.M. (2003). Effects of Cultivar and Processing Method on the Contents of Catechins and Procyanidins in Grape Juice. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 640-646.

Garde-Cerdán, T. ; Arias-Gil, M. ; Marsellés-Fontanet, A.R. ; Ancín-Azpilicueta, C. ; Martín-Belloso, O. (2007). Effects of thermal and non-thermal processing treatments on fatty acids and free amino acids of grape juice. *Food Control* **18**: 473-479.

Garoglio, P.G. (1953). *Nuovo Trattato di Enologia*, vol. 3, Firenze.

Gervais, J.P. (1995). Techniques de filtration frontale. Principes et mise en œuvre. *Revue Française d'œnologie*, **150** : 9-12.

González, M.A.; Perez, M.S.; Salvador, M.D.; Cabezudo, M.D.; Perez, P.J. (1994). Evolución en el mercado de los vinos blancos jóvenes. *Jornadas científicas de Tarragona*, 14 y 15 de diciembre.

Guide Pratique L'Hygiène en Œnologie. De la Vendange à la mise en bouteilles. I.T.V. (Institut Technique de la Vigne et du Vin 21, rue François-Ier, 75008 Paris.

Gunata, Z. ; Olivieri, C.H. ; Pineau, J. ; Planque, J. (1988). Détection de la pourriture grise dans les vendanges. Applications à la vinification et incidences technologiques. *Rev. Franc. Oenol.* **114** : 7-10. Paris

Gutierrez, I. H. (2003). Influence of ethanol content on the extent of copigmentation in a Cencibel young red wine. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 4079-4083.

Hoffman, P. ; Bach, H.P. (1980). Recherches sur l'influence des différents appareils de chauffage sur le vin pendant l'embouteillage à chaud. *Der Deutsche Weinbau (RFA)*, **31** : 1332-1335.

Hoj, P.B. ; Tattersall, D.B. ; Adams, K. ; Pocock, K.F.; Hayasaka, Y. ; Heeswijck, R. ; Waters, E.J. (2001). The haze proteins of wine, a summary of properties, factors affecting their accumulation in grapes and the amount of bentonite required for their removal from wine. *Proceedings of the ASEV 50th anniversary annual meeting, 19-23 June 2000. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, pp. 149-154.*

Hood, A.V. ; Rankine, B.C. (1977). Microbiological contamination in wine bottling. *Grapegrower and Winemaker. April.*

Hsu, J.C.; Heatherbell, D.A. (1987). Isolation and Characterization of Soluble Proteins in Grapes, Grape Juice, and Wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **38** : 6-10.

Hsu, J.C.; Heatherbell, D.A. (1987). Heat-unstable proteins in wine.Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *Am. J. Enol. and Vitic.*, **38** : 11-16.

Jackson, R. et al. (2008). Wine Science: Principles and Applications. Third Edition.

Jacob, F.C.; Archer, T.E.; Castor, J.G.B. (1964). Thermal Death Time of Yeast. *Am. J. Enol. Vitic.* **15** : 69-74.

Kramling, T.E.; Singleton, V.L. (1969). Na estimate of the nonflavonoidphenols in wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **20** : 86-92.

Krug, K. (1968). Causes of protein turbidity in Wines and protein sedimentation. *Wein-Wiss*, **23** : 8-29.

Lamikanra, O.; Inyang, I.D. (1988). Temperature Influence on Muscadine Wine Protein Characteristics. *Am. J. Enol. Vitic.* **39** : 113-116.

Li, H; Guo, A; Wang, H. (2007). Mechanisms of oxidative browning of Wine, *Food Chemistry.* **108** : 1-13.

Loncin, M. (1976). Génie industriel alimentaire. Aspects fondamentaux. Ed. Masson, Paris.

Malletroit, V. ; Guinard, J.X. ; Kunkee, R.E. ; Lewis, M.J. (1991). Effect of pasteurization on microbiological and sensory quality of white grape juice and wine. *Journal of Food Processing and Preservation*, **15** : 19-29.

Marteau, G.; Olivieri, C.H. (1970). Bases et perspectives de la vinification en rouge par macération à chaud. *Bull. Tech. D'information*, **253**.

Michod, J. (1959). *Rev. Romande Agric. Vitic., Arboric.*, **15** : 85.

Neradt, F. (1990). Wirksame Tiefenfilter-wirtschaftliche Membranefiltration. *Meinw. Tech., RFA*, **5** : 9-12.

O.I.V. (1990). Recueil des méthodes internationales d'analyse des Vins et des moûts. *O.I.V., Paris*.

O.I.V. (2009). Compendium of International methods of analysis, *O.I.V. International Organisation of Vine and Wine, Paris*.

Ough, C.S. ; Kunkee, R.E. ; Vilas, M.R. ; Bordeu, E. ; Huang, M.C. (1988). The interaction of sulphur dioxide, pH and dimethyl dicarbonate on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet and *Leuconostoc oenos* MCW. *Am. J. Enol. Vitic.* **39** : 279-282.

Parton, T.; Bertucco, A.; Bertoloni, G. (2007). Pasteurisation of grape must and tomato paste by dense phase CO₂. *Ital. J. Food Sci.* **4** : 425-437.

Pasteur L. (1873). Conservation des vins. Études sur le vin. *Savy, Paris*, 130-262.

Pasteur, V.R. (1924). Oeuvres de Pasteur réunies, Études sur le vinaigre et sur le Vin. *Masson et Cie Ed., Paris*.

Pilone, F.J. (1953). The role of pasteurization in the stabilization and clarification of wines. Padre Vineyard Company, Cucamonga, California. *Am. J. Enol. Vitic.* **4** : 77-83.

Pocock, K.F.; Hoj, P.B.; Adams, K.S.; Kwiatkowski, M.J.; Waters, E.J. (2003). Combined heat and proteolytic enzyme treatment of white wines reduces haze forming protein content without detrimental effect. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **9** : 56-63.

Porter, L.J. (1992). Structure and chemical properties of the condensed tannins. In *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance*; Hemingway, R.W., Laks, P.E., Eds.; Plenum Press: New York. pp. 245-258.

Rahman, M. S. (1999). Handbook of food preservation. Horticulture and Food Research Institute of New Zealand. Marcel Dekker, New York.

Rankine, B.C., Bridson, D.A. (1971). Bacterial spoilage in dry red Wine and its relationship to malolactic fermentation. *Australian Wine, Brewing Spirit Rev.* **90** :44-50.

Rankine, B.C., Pilone, D.A. (1973). *Saccharomyces bailii*, a resistant yeast causing spoilage of bottled table wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **24** : 55-58.

Rankine, B.C. (1989). Making good wine : a manual of winemaking practice for Australia and New Zealand. Sun Books, Melbourne.

Rapp, A. (1993). Les arômes des vins et des eaux-de-vie. Leur formation et leur évolution. *Bull. O.I.V.*, **45** : 151-166.

Read, S.M. ; Northcote, D.H. (1981). Minimization of variation in the response to different proteins of the coomassie blue G dye binding assay for protein. *Anal. Biochem.* **116**: 53-64.

Ribéreau-Gayon, P. (1954). *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **47** : 541-542.

Ribéreau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Sudraud, P.; Ribéreau –Gayon, P. (1976), *Sciences et Techniques du Vin*, volume 3. Dunod. Paris.

Ribéreau-Gayon, J.; Peynaud, E.; Sudraud, P.; Ribéreau –Gayon, P. (1977), *Sciences et Techniques du Vin*, volume 4. Dunod. Paris.

Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (1998). *Traité d'œnologie 2. Chimie du Vin. Stabilisation et traitements*, Ed. La Vigne-Dunod. 51-379.

Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (2001). Handbook of Enology – The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments. Vol. 2. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex. England.

Robinson, W.B.; Weirs, L.D.; Bertino, J.J.; Mattick, L.R. (1966). The relation of anthocyanin composition to color stability of New York State wines. *Am. J. Enol. and Vitic.* **17**: 178-184.

Sacchi, K.L.; Bisson, L.F.; Adams, D.O. (2005) A Review of the Effect of Winemaking Techniques on Phenolic Extraction in Red Wines. *Am. J. Enol. Vitic.* **56** : 197-206.

Santamaria, M.P.; Lopez, R.; Gutierrez, A.R.; Diez de Bethencourt, C.A.; Garcia-Escudero, E. (1995). Incidence de la température de fermentation sur l'évolution des acides gras totaux. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **29** : 101-104.

Serra, T. (2004). A cor devido à copigmentação. Sua avaliação em vinhos tintos. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Agronómica, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Singleton, V.L.; Sullivan, A.R.; Kramer, C. (1971). An analysis of wine to indicate aging in wood or treatment with wood chips or tannic acid. *Am. J. Enol. Vitic.* **22**: 161-166.

Somers, T.C. (1971). The polymeric nature of Wine pigments. *Phytochemistry.* **10**: 2175-2186.

Somers, T.C.; Evans, M.E. (1986). Evolution of red wines. Ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis*, **25**: 31-39.

Splittstoesser, D.F.; Lienk, L.L.; Wilkison, M.; Stamer, J.R. (1975). Influence of Wine Composition on the Heat Resistance of Potential Spoilage Organisms. *American Society for Microbiology.* **30** : 369-373.

Sudraud, P. (1958). Interpretation des courbes d'absorption des vins rouges. *Annales Technologie Agricole.* **7** : 67-73.

Sun, B., Ricardo da Silva, J.M., Spranger, M. I. (1998). Critical factors of Vanillin Assay for catechins and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 4267-4274.

Sun, B.S., Leandro, M.C., Ricardo da Silva, J.M., Spranger, M. I. (1998). Separation of grape and Wine proanthocyanidins according to their degree of polymerisation. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 1390-1396.

Tarantola (1954). Esperienze di desacidificazione biologica dei vini nel corso del processo fermentativo. *Vini d'Italia*, **451**.

Van Buren, J.P.; Bertino, J.J.; Robinson, W.B. (1968). The Stability of wine anthocyanins on exposure to heat and light. *Am. J. Enol. Vitic.* **19** : 147-154.

Vaughn, R.H. (1955). Bacterial spoilage of Wines with special reference to California conditions. *Adv. Food Res.* **6**: 67-108.

Vidal, S. ; Cartolade, D. ; Souquet, J.M. ; Fulcrand, H. ; Cheynier, V. (2002). Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 2261-2266.

Villetaz, J.C. (1987). La Beta Glucanase: une voie naturelle pour améliorer la filtration des vins issus des vendanges botrytisés. *Rev. Fr. d'Oenol.*, **108**: 65-72.

Villetaz, J.C. (1988). Les colloïdes du moût et du vin. *Rev. Fr. d'Oenol.* **111**: 23-27.

Walls, I.; Chuyate, R. (1998). *Alicyclobacillus* – historical perspective and preliminary characterization study. *Dairy Food Environ. Sanitation* **18**: 499-503.

Winniczuck, P.P.; Parish, M.E. (1997). Minimum inhibitory concentrations of antimicrobials against micro-organisms related to citrus juices. *Food Microbiol.* **14**: 373-381.

Wurdig, G. (1978). Problèmes de la conservation des vins doux. *Bull. OIV*, **51** : 87-94.

XIV. ANEXOS



INSTITUTO SUPERIOR de AGRONOMIA
Ficha de Prova – Análise Sensorial de Vinho



Anexo 1

PROVADOR _____

DATA _____

Numa escala de 1 a 6 classifique os atributos Cor, Aroma e Gosto da seguinte forma:

Cor: 1 descorada 2 ligeira 3 Pouco Intensa 4 Intensa 5 Bastante Intensa 6 Muito Intensa

Aroma e Gosto: 1 inexistente 2 Pouco perceptível, 3 Pouco Intenso 4 Intenso 5 Bastante Intenso 6 Muito Intenso

Para **Apreciação Global** utilize uma escala hedónica crescente de 0 a 20.

	Amostras							
	Amostra nº	Amostra nº	Amostra nº	Amostra nº	Amostra nº	Amostra nº	Amostra nº	Amostra nº
COR	Intensidade							
	Intensidade							
	Frutado							
	Floral							
AROMA	Vegetal							
	Equilíbrio							
	Elegância							
	Intensidade							
GOSTO	Corpo							
	Adstringência							
	Acidez							
	Amargor							
	Persistência							
APRECIÇÃO GLOBAL								

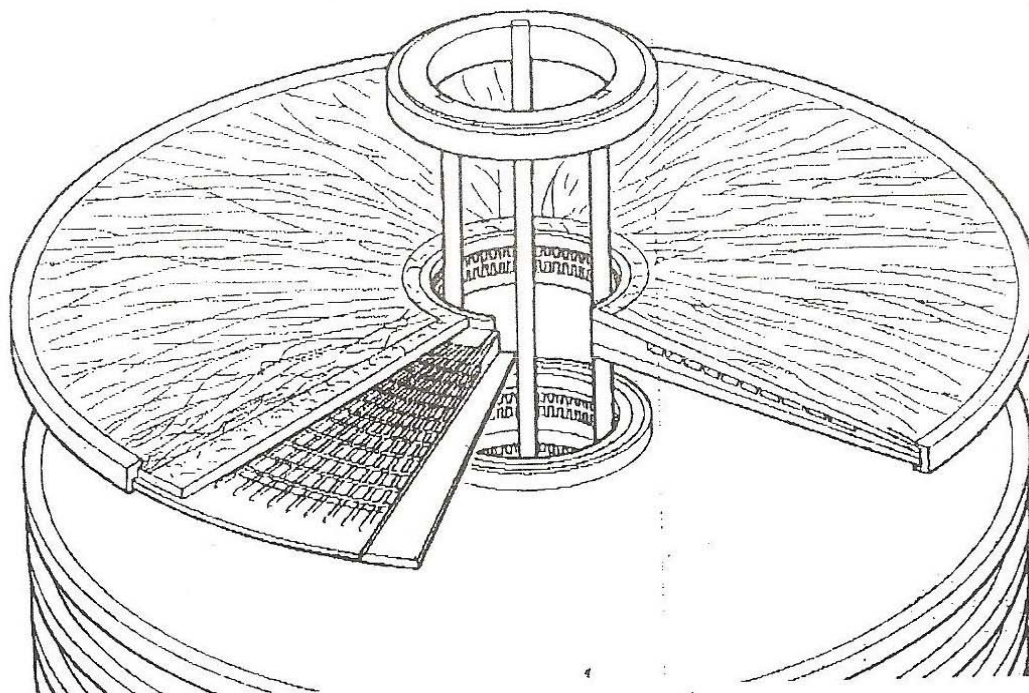
Observações: _____

Anexo 2

multifiltra

SERIES 300 & 400

SUB MICRONIC LENTICULAR FILTER MODULES



XE 50	01	10 - 25 μm	Primary Grades
XE 90	02	4 - 9 μm	
XE 200	03	1.5 - 3 μm	Clarifying Grades
XE 280	04	0.6 - 1.5 μm	
XE 400	05	0.5 - 0.8 μm	
XE 675	06	0.4 - 0.6 μm	Sterilising Grades
XE 1700	08	0.2 - 0.4 μm	
	09	0.05 - 0.2 μm	

MODULE IDENTITY

Each module has a unique nomenclature , e.g:

3	AC	10	M	06		
CLG	12	18	XE	675		

Module diam

No. of cells

Media Migration
Discs

Grade

Paper
Type

Scrim
Cover

Anexo 3



**MANUALE DI USO, MANUTENZIONE E SICUREZZA
OPERATING AND SAFETY INSTRUCTIONS**

**IMPIANTO PASTORIZZATORE A PIASTRE
PER VINO 3'000 l/h
VINE PLATES PASTEURIZER PLANT
CAPACITY 3'000 l/h**

Comm. 2852/05

- REDA S.p.A. -
SELF-CLEANING SEPARATORS - UHT PLANTS - HEAT EXCHANGERS - DAIRY AND FOOD INDUSTRY PLANT
SPECIAL EQUIPMENTS FOR OENOLOGICAL APPLICATIONS
VIA PIAVE 9 - 36033 ISOLA VICENTINA (VI) - ITALY - TEL. +39/0444/977222 - FAX +39/0444/977227
www.redaspa.com reda@redaspa.com

Anexo 4

Intensidade Cor

One-Way ANOVA - IC by code

Dependent variable: IC

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for IC. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of IC for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for IC

code	Count	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
Testem	10	4,5	0,527046	11,7121%	4,0	5,0	1,0
Pasteur	10	4,3	0,483046	11,2336%	4,0	5,0	1,0
Total	20	4,4	0,502625	11,4233%	4,0	5,0	1,0

code	Std. skewness	Std. Kurtosis
Testem	0	-1,65985
Pasteur	1,33631	-0,790405
Total	0,807204	-1,84215

The StatAdvisor

This table shows various statistics for IC for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for IC by code

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,2	1	0,2	0,78	0,3880
Within groups	4,6	18	0,255556		
Total (Corr.)	4,8	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of IC into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,782609, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean IC from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Intensidade Aroma

One-Way ANOVA - IA by code

Dependent variable: IA

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for IA. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of IA for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for IA

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	4,1	0,737865	17,9967%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	4,3	0,823273	19,1459%	3,0	5,0	2,0
Total	20	4,2	0,767772	18,2803%	3,0	5,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	-0,214241	-0,473552
Pasteur	-0,88689	-0,673575
Total	-0,679421	-1,03241

The StatAdvisor

This table shows various statistics for IA for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for IA by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,2	1	0,2	0,33	0,5743
Within groups	11,0	18	0,611111		
Total (Corr.)	11,2	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of IA into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,327273, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean IA from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Aroma Frutado

One-Way ANOVA - AF by code

Dependent variable: AF

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for AF. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of AF for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for AF

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	3,7	0,674949	18,2419%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	3,9	0,737865	18,9196%	3,0	5,0	2,0
Total	20	3,8	0,695852	18,3119%	3,0	5,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	0,559823	-0,182672
Pasteur	0,214241	-0,473552
Total	0,532355	-0,670214

The StatAdvisor

This table shows various statistics for AF for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for AF by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,2	1	0,2	0,40	0,5350
Within groups	9,0	18	0,5		
Total (Corr.)	9,2	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of AF into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,4, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean AF from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Aroma Floral

One-Way ANOVA - AFI by code

Dependent variable: AFI

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for AFI. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of AFI for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for AFI

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	2,9	0,994429	34,2907%	1,0	4,0	3,0
Pasteur	10	2,8	0,632456	22,5877%	2,0	4,0	2,0
Total	20	2,85	0,812728	28,5168%	1,0	4,0	3,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	-0,787688	-0,101632
Pasteur	0,170103	0,115267
Total	-0,653346	-0,00766538

The StatAdvisor

This table shows various statistics for AFI for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for AFI by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,05	1	0,05	0,07	0,7915
Within groups	12,5	18	0,694444		
Total (Corr.)	12,55	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of AFI into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,072, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean AFI from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Aroma Vegetal

One-Way ANOVA - AV by code

Dependent variable: AV

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for AV. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of AV for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for AV

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	2,5	0,707107	28,2843%	1,0	3,0	2,0
Pasteur	10	2,0	0,666667	33,3333%	1,0	3,0	2,0
Total	20	2,25	0,71635	31,8378%	1,0	3,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	-1,52145	0,368856
Pasteur	0	0,0518703
Total	-0,762423	-0,753965

The StatAdvisor

This table shows various statistics for AV for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for AV by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	1,25	1	1,25	2,65	0,1211
Within groups	8,5	18	0,472222		
Total (Corr.)	9,75	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of AV into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 2,64706, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean AV from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Aroma Equilíbrio

One-Way ANOVA - AEq by code

Dependent variable: AEq

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for AEq. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of AEq for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for AEq

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	3,9	0,737865	18,9196%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	3,6	0,516398	14,3444%	3,0	4,0	1,0
Total	20	3,75	0,638666	17,0311%	3,0	5,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	0,214241	-0,473552
Pasteur	-0,625	-1,46966
Total	0,461077	-0,400605

The StatAdvisor

This table shows various statistics for AEq for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for AEq by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,45	1	0,45	1,11	0,3061
Within groups	7,3	18	0,405556		
Total (Corr.)	7,75	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of AEq into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 1,10959, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean AEq from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Aroma Elegância

One-Way ANOVA - AEI by code

Dependent variable: AEI

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for AEI. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of AEI for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for AEI

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	3,9	0,737865	18,9196%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	3,9	0,737865	18,9196%	3,0	5,0	2,0
Total	20	3,9	0,718185	18,415%	3,0	5,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	0,214241	-0,473552
Pasteur	0,214241	-0,473552
Total	0,276698	-0,803126

The StatAdvisor

This table shows various statistics for AEI for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for AEI by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0	1	0	0,00	1,0000
Within groups	9,8	18	0,544444		
Total (Corr.)	9,8	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of AEI into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals $-3,2627E-15$, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean AEI from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Intensidade de Gosto

One-Way ANOVA - IG by code

Dependent variable: IG

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for IG. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of IG for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for IG

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	4,1	0,567646	13,845%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	4,4	0,516398	11,7363%	4,0	5,0	1,0
Total	20	4,25	0,55012	12,944%	3,0	5,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	0,117636	0,967095
Pasteur	0,625	-1,46966
Total	0,240493	-0,0694322

The StatAdvisor

This table shows various statistics for IG for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for IG by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,45	1	0,45	1,53	0,2323
Within groups	5,3	18	0,294444		
Total (Corr.)	5,75	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of IG into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 1,5283, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean IG from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Corpo

One-Way ANOVA - C by code

Dependent variable: C

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for C. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of C for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for C

code	Count	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
Testem	10	3,8	0,632456	16,6436%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	3,7	0,823273	22,2506%	3,0	5,0	2,0
Total	20	3,75	0,71635	19,1027%	3,0	5,0	2,0

code	Std. skewness	Std. Kurtosis
Testem	0,170103	0,115267
Pasteur	0,88689	-0,673575
Total	0,762423	-0,753965

The StatAdvisor

This table shows various statistics for C for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for C by code

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,05	1	0,05	0,09	0,7642
Within groups	9,7	18	0,538889		
Total (Corr.)	9,75	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of C into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,0927835, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean C from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Adstringência

One-Way ANOVA - Ads by code

Dependent variable: Ads

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for Ads. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of Ads for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for Ads

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	3,7	0,483046	13,0553%	3,0	4,0	1,0
Pasteur	10	3,7	0,823273	22,2506%	3,0	5,0	2,0
Total	20	3,7	0,656947	17,7553%	3,0	5,0	2,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	-1,33631	-0,790405
Pasteur	0,88689	-0,673575
Total	0,723026	-0,499715

The StatAdvisor

This table shows various statistics for Ads for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for Ads by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0	1	0	0,00	1,0000
Within groups	8,2	18	0,455556		
Total (Corr.)	8,2	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of Ads into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 3,89932E-15, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean Ads from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Acidez

One-Way ANOVA - Ac by code

Dependent variable: Ac

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for Ac. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of Ac for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for Ac

code	Count	Average	Standard deviation	Coeff. of variation	Minimum	Maximum	Range
Testem	10	3,6	0,699206	19,4224%	2,0	4,0	2,0
Pasteur	10	3,7	0,823273	22,2506%	3,0	5,0	2,0
Total	20	3,65	0,74516	20,4153%	2,0	5,0	3,0

code	Std. skewness	Std. Kurtosis
Testem	-2,14011	1,32034
Pasteur	0,88689	-0,673575
Total	-0,274818	0,0747079

The StatAdvisor

This table shows various statistics for Ac for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

WARNING: The standardized skewness and/or kurtosis is outside the range of -2 to +2 for 1 levels of code. This indicates some significant nonnormality in the data, which violates the assumption that the data come from normal distributions. You may wish to transform the data or use the Kruskal-Wallis test to compare the medians instead of the means.

ANOVA Table for Ac by code

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,05	1	0,05	0,09	0,7730
Within groups	10,5	18	0,583333		
Total (Corr.)	10,55	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of Ac into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,0857143, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean Ac from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Amargor

One-Way ANOVA - Am by code

Dependent variable: Am

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for Am. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of Am for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for Am

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	2,4	0,843274	35,1364%	1,0	3,0	2,0
Pasteur	10	2,4	1,17379	48,9078%	1,0	4,0	3,0
Total	20	2,4	0,994723	41,4468%	1,0	4,0	3,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	-1,29172	-0,429551
Pasteur	0,0532187	-0,940251
Total	-0,416551	-0,968769

The StatAdvisor

This table shows various statistics for Am for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for Am by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0	1	0	0,00	1,0000
Within groups	18,8	18	1,04444		
Total (Corr.)	18,8	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of Am into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 3,40153E-15, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean Am from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Persistência

One-Way ANOVA - Per by code

Dependent variable: Per

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for Per. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of Per for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for Per

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	4,1	0,737865	17,9967%	3,0	5,0	2,0
Pasteur	10	4,0	0,942809	23,5702%	2,0	5,0	3,0
Total	20	4,05	0,825578	20,3846%	2,0	5,0	3,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	-0,214241	-0,473552
Pasteur	-1,28372	0,765087
Total	-1,31777	0,487616

The StatAdvisor

This table shows various statistics for Per for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for Per by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,05	1	0,05	0,07	0,7947
Within groups	12,9	18	0,716667		
Total (Corr.)	12,95	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of Per into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,0697674, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean Per from one level of code to another at the 95,0% confidence level.

Apreciação Global

One-Way ANOVA - AG by code

Dependent variable: AG

Factor: code

Number of observations: 20

Number of levels: 2

The StatAdvisor

This procedure performs a one-way analysis of variance for AG. It constructs various tests and graphs to compare the mean values of AG for the 2 different levels of code. The F-test in the ANOVA table will test whether there are any significant differences amongst the means. If there are, the Multiple Range Tests will tell you which means are significantly different from which others. If you are worried about the presence of outliers, choose the Kruskal-Wallis Test which compares medians instead of means. The various plots will help you judge the practical significance of the results, as well as allow you to look for possible violations of the assumptions underlying the analysis of variance.

Summary Statistics for AG

<i>code</i>	<i>Count</i>	<i>Average</i>	<i>Standard deviation</i>	<i>Coeff. of variation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>Range</i>
Testem	10	14,5	1,08012	7,44913%	13,0	16,0	3,0
Pasteur	10	14,2	1,0328	7,27321%	13,0	16,0	3,0
Total	20	14,35	1,03999	7,24732%	13,0	16,0	3,0

<i>code</i>	<i>Std. skewness</i>	<i>Std. Kurtosis</i>
Testem	0	-0,666198
Pasteur	0,351563	-0,578138
Total	0,243469	-0,975687

The StatAdvisor

This table shows various statistics for AG for each of the 2 levels of code. The one-way analysis of variance is primarily intended to compare the means of the different levels, listed here under the Average column. Select Means Plot from the list of Graphical Options to display the means graphically.

ANOVA Table for AG by code

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
Between groups	0,45	1	0,45	0,40	0,5335
Within groups	20,1	18	1,11667		
Total (Corr.)	20,55	19			

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variance of AG into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 0,402985, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is greater than or equal to 0,05, there is not a statistically significant difference between the mean AG from one level of code to another at the 95,0% confidence level.